

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

JUBILÉ DE M. LE PROFESSEUR A. LAVERAN

Le 16 juin dernier, M. le professeur A. LAVERAN atteignait l'âge de soixante-dix ans. Cet anniversaire a été célébré, d'une façon tout intime, le dimanche 20 juin, à 10 h. 1/2 du matin, à la bibliothèque de l'Institut Pasteur, sous la présidence de M. Gaston Darboux, secrétaire perpétuel de l'Académie des Sciences, président du Conseil d'administration de l'Institut Pasteur. M^{me} LAVERAN assistait à la cérémonie.

Aux membres du Conseil d'administration et aux membres de l'Assemblée de l'Institut Pasteur, aux collègues, aux amis, aux élèves de M. Laveran, s'étaient joints des membres de l'Académie des Sciences, de l'Académie de Médecine, de la Société de Pathologie exotique ainsi que des représentants de la médecine militaire.

La séance a été ouverte par une allocution de M. Darboux qui a félicité M. Laveran au nom de l'Académie des Sciences et du Conseil d'administration de l'Institut Pasteur. Puis la parole a été donnée à M. Roux dont on trouvera plus loin le discours.

M. le professeur Mesnil a donné connaissance d'un grand nombre de lettres et de télégrammes de Sociétés et de person-

nalités savantes et aussi des élèves de M. Laveran dont plusieurs étaient aux armées.

Il a aussi complimenté, en qualité de Secrétaire général de la Société de Pathologie exotique, M. Laveran, qui en est un des principaux fondateurs et le Président depuis près de huit ans.

M. Laveran a remercié les personnes qui ont songé à fêter son 70^e anniversaire et il a prononcé l'allocution qu'on lira ci-après :

*
* *

DISCOURS DE M. É. ROUX

Cher monsieur Laveran,

Il y a quarante ans bien comptés, j'étais votre élève au Val-de-Grâce, et, c'est en cette qualité, plus encore qu'en celle de directeur de l'Institut Pasteur, que je réclame le privilège de vous complimenter, à l'occasion de votre soixante-dixième anniversaire.

Avant de vous connaître j'avais eu affaire à votre père, le médecin-inspecteur des armées, Louis Laveran. A mon entrée à l'École d'application, dont il était directeur, je lui avais demandé la faveur de continuer à remplir les fonctions d'aide de clinique à la faculté, près du professeur Béhier. Il me l'avait accordée en me recommandant de profiter des moyens de travail mis à ma disposition et de préparer une thèse originale. J'ai gardé une profonde reconnaissance à ce directeur libéral et bienveillant, d'autant que, l'année suivante, son successeur me tenait un tout autre langage.

De l'autorité du père je passai sous celle du fils ; tout d'abord elle me parut moins aimable. J'étais stagiaire à votre service de fiévreux et je suivais votre cours d'hygiène. Le jeune agrégé que vous étiez n'encourageait pas la familiarité de ses disciples. Vous ne leur passiez aucune défaillance. Il fallait arriver à l'heure précise, recueillir correctement les observations et exécuter les prescriptions sans omission. Dès les premiers contacts, nous avons acquis la conviction que pour vivre en

bonne intelligence avec le chef, il n'y avait qu'un moyen, faire consciencieusement sa besogne. D'ailleurs, vous étiez encore plus exigeant pour vous-même que pour les autres. Jamais je n'ai vu clinicien examiner des malades avec plus de soin, professeur se documenter plus exactement. Vous nous donniez l'exemple du travail et de la régularité.

Ce régime me paraissait alors un peu austère ; j'ai souvent pensé depuis qu'il était salubre pour un étudiant, au début de sa carrière, de passer par une semblable école de devoir et de discipline. Que n'ai-je profité de votre enseignement comme je l'aurais dû et que ne vous ai-je pris ces qualités d'ordre et de persévérance sans lesquelles les mieux doués ne sauraient mener à bien une œuvre importante !

A cette époque, les cliniciens se servaient peu du laboratoire. Vous, qui aimiez la précision et qui aviez étudié l'histologie et l'anatomie pathologique à Strasbourg et chez Ranvier, vous aviez constamment recours aux examens microscopiques pour éclairer le diagnostic. Vous aviez installé un laboratoire dans le musée d'hygiène. Ce laboratoire consistait en une table placée dans l'embrasure d'une fenêtre et sur laquelle étaient disposés un microscope avec quelques réactifs. Dans un réduit voisin vous faisiez de rudimentaires opérations chimiques. Vous avez passé beaucoup de temps à cette table, dans une solitude propice au travail et à la réflexion. C'était une faveur pour un élève que d'être admis dans ce sanctuaire. A plusieurs reprises vous m'y avez expliqué des préparations et j'étais fier de cette marque d'estime. Ces visites à votre laboratoire me firent découvrir, qu'en dehors du service, le sévère professeur devenait un maître accueillant, pour qui manifestait quelque curiosité scientifique. Ce fut bien une autre surprise lorsque, des années plus tard, reçu à votre foyer, je trouvai en vous un fervent ami des lettres et des beaux-arts, un hôte plein d'humour, de gaieté et d'entrain. Je n'oublierai jamais les bonnes soirées passées dans cet intérieur qu'embellissait la grâce de M^{me} Laveran et la spirituelle bonté de votre sœur.

En 1878, vous quittiez le Val-de-Grâce et vous étiez envoyé en Algérie à l'hôpital de Bône.

La principale maladie dans l'Afrique du Nord est le paludisme, cette affection a dressé, contre notre établissement dans

ces régions, plus d'obstacles que la belliqueuse résistance des indigènes. Dès votre arrivée vous étiez aux prises avec le problème de la malaria. On avait signalé des grains d'un pigment noir dans les vaisseaux des malades atteints de paludisme. Vous reconnaissez que la présence de ces grains est constante, et que, dans les cas de fièvre pernicieuse, ils encombrent les capillaires du foie et des centres nerveux. Vous vous attachez à l'étude de ce pigment et vous recherchez systématiquement son apparition dans le sang des malades. Il se rencontre dans l'intérieur des leucocytes, dans des corps en forme de croissant et aussi dans de petits corps accolés aux globules rouges et qui sont capables de mouvements amiboïdes. Lorsque ces corps sont très jeunes, ils ne sont pas pigmentés, mais à mesure qu'ils grossissent, les globules rouges pâlisent et le pigment devient visible. Il paraît se former aux dépens de la matière colorante du sang, sous l'action des amibes développées dans les hématies.

Ces formes ne ressemblaient à aucun des parasites décrits jusque-là, et vous hésitez à les faire connaître. Mais, en 1880, à Constantine, vous apercevez les corps flagellés qu'il est impossible de ne pas tenir pour des êtres vivants, et vous proclamez que la malaria est causée par le développement, dans les globules rouges, d'un parasite dont l'évolution correspond aux diverses figures que vous publiez.

Il semble que la découverte était bien facile à faire et qu'il n'y avait qu'à regarder. La preuve qu'il n'en est pas ainsi c'est, qu'avant vous, beaucoup d'observateurs avaient regardé et n'avaient rien su voir. Vous avez réussi, parce que vous avez abordé la question avec un esprit libre, et en ne tenant compte que des faits. L'apparition de ces grains de pigment est ce qu'il y a de plus caractéristique dans la malaria, vous concluez qu'il doit exister une relation entre eux et la cause même de la maladie. Ces grains, faciles à distinguer, vous ont, pour ainsi dire, conduit jusqu'au parasite spécifique.

J'imagine qu'avec un autre caractère, vous n'auriez peut-être pas découvert l'hématozoaire du paludisme. Si, au lieu de vous concentrer dans un travail solitaire, vous aviez poursuivi vos recherches dans un laboratoire fréquenté, vous auriez pu être entraîné hors de votre propre sentier et vous engager dans

la voie où tout le monde se jetait, mais qui ne conduisait pas où vous vouliez aller.

Cette grande découverte a été accomplie par la simple observation, et quiconque est habitué à se servir du microscope, peut en vérifier l'exactitude. Elle fut cependant accueillie avec défiance et a dû faire péniblement son chemin. Nous nous en étonnons aujourd'hui, il est cependant tout naturel qu'il en ait été ainsi, car elle ne correspondait pas à ce que l'on attendait et se présentait en contradiction avec les idées du jour. A bien réfléchir, je trouve que vous n'aviez pas lieu de vous plaindre; apportant une chose aussi neuve, vous méritiez d'être encore plus malmené.

Que la malaria fût causée par un microbe, la plupart des savants étaient disposés à l'admettre, mais ce que vous décriviez était si différent des microbes connus, que les plus bienveillants croyaient que vous aviez pris pour des parasites des éléments normaux plus ou moins altérés. Même au laboratoire de Pasteur, où nous étions habitués à voir des cocci et des bacilles, nous ne savions que penser de vos corps pigmentés, de vos croissants et de vos flagelles. Nous étions à trop bonne école pour nous prononcer sans preuve, pourtant nous inclinions du côté de Thommasi Crudeli dont le « *Bacillus malariae* » nous offrait une figure plus familière. Toutefois, au milieu des sceptiques il y avait un croyant : c'était un savant naturaliste d'Odessa qui ne se trompa pas un instant sur la valeur de vos recherches. Dans les dessins que vous aviez publiés, il reconnut des formes rappelant celles des coccidies. En donnant un état civil à votre hématozoaire, Élie Metchnikoff facilitait son admission dans le monde.

En 1884, revenu à Paris, vous occupiez la chaire d'hygiène au Val-de-Grâce, où vous étiez aussi médecin d'un service de fiévreux. Un beau matin, vous frappez à la porte du laboratoire de Pasteur qui était votre voisin, et vous nous demandez de venir jusqu'à l'hôpital militaire pour voir le parasite de la malaria. Pasteur, Chamberland et moi, nous vous suivîmes jusqu'à un cabinet qui précédait la salle de malades, et dans lequel vous aviez installé le microscope. Au milieu du champ, un magnifique corps flagellé agitait ses prolongements. Le spectacle était saisissant; il était impossible de ne pas recon-

naître un être vivant dans cette masse protoplasmique repoussant de ses fouets les globules environnants. Vous fîtes passer sous nos yeux des préparations où se voyaient les divers aspects du parasite malarique. Quelle instructive séance ! J'en ai gardé le plus vif souvenir. Pasteur si passionné pour la science en était tout ému. Nous vous quittions convaincus et pleins d'admiration.

À la suite de Metchnikoff, des observateurs de plus en plus nombreux confirmaient l'existence du parasite malarique ; si bien que, moins de dix ans après vos premières publications, il n'y avait plus guère d'opposants. L'Académie des Sciences, elle-même, était persuadée et vous attribuait le prix Bréant. Alors, certains s'avisèrent que la découverte était de peu de mérite. Pour quelques-uns même, il n'était plus question de découverte mais simplement d'une heureuse trouvaille. Qu'est-ce donc qu'une trouvaille faite à la suite d'une recherche persévérante, ordonnée et systématique, sinon une découverte dans toute la force du terme !

La démonstration de l'existence de l'hématozoaire et l'étude de son évolution dans le sang des paludiques ne suffisent pas à éclaircir l'histoire de la malaria. Comment le parasite pénètre-t-il dans l'organisme humain ? Où le rencontre-t-on dans le milieu extérieur ? Tant que ces questions ne sont pas résolues, il est impossible d'instituer une prophylaxie efficace contre le fléau. Dès 1884, vous aviez émis une idée qui vous eût certainement conduit à la solution de ces difficultés, si un séjour plus prolongé en Algérie vous eût permis de la poursuivre. Pour vous, les moustiques sont les agents transporteurs du virus malarique, ils le puisent dans le sang des malades et l'inoculent, par piqûre, aux personnes saines. Ronald Ross a prouvé qu'il en est ainsi. Ses recherches mémorables nous ont appris que l'hématozoaire subit une évolution dans le corps de certains moustiques qui, seuls, sont aptes à propager le mal. La prophylaxie de la malaria consiste donc à faire disparaître le parasite du sang des malades par l'administration rationnelle de la quinine, et à se préserver des piqûres de moustiques. La défense mécanique, la destruction des larves, le pétrolage, le dessèchement des gîtes, sont des mesures prises maintenant avec le plus grand succès dans les pays palustres. Vous avez été

un de leurs plus ardents propagateurs, en fondant des ligues antipaludiques et en rédigeant les instructions qu'elles appliquent.

A mesure que le temps s'écoule, l'importance de tous ces travaux nous apparaît plus considérable. Grâce à eux, des contrées que la malaria interdisait à l'Européen sont ouvertes à la civilisation. C'est ainsi que le travail d'un savant peut avoir pour l'humanité des conséquences qui dépassent celles des conceptions de nos plus grands politiques.

Arrivé au terme de votre professorat à l'École du Val-de-Grâce, vous devenez médecin-chef de l'hôpital militaire de Lille et ensuite directeur du Service de Santé, à Nantes. Dans ces fonctions administratives vous étiez privé et de service hospitalier et de laboratoire. La médecine militaire, sur laquelle vos travaux avaient jeté tant d'éclat, ne vous avait pas donné les satisfactions que vous étiez en droit d'attendre, et en 1897 vous preniez une retraite anticipée. Alors, vous êtes venu à l'Institut Pasteur. C'est l'honneur de cette maison d'exercer une attraction sur les esprits désireux de travailler au progrès de la Science, dans la paix et la liberté. Nous avons ressenti une grande fierté quand vous avez pris rang parmi nous ; votre renommée ajoutait encore à celle de cet Institut. La place manquant dans la ruche trop remplie, pendant plusieurs années vous vous êtes contenté d'une simple chambre de travailleur. Lorsque le prix Nobel pour la médecine vous fut attribué, vous l'avez généreusement consacré à l'installation de ce laboratoire de protozoologie qui, dans l'avenir, portera votre nom.

On peut dire que depuis 1880 la direction de vos études est fixée. Sans doute, vous avez publié de nombreux travaux de pathologie, d'anatomo-pathologie et d'hygiène qui vous ont mérité une renommée enviable dans chacune de ces branches de la médecine, mais c'est aux parasites du sang que vous avez consacré le meilleur de votre activité. Dans ce chapitre de la science que vous avez ouvert, de nombreuses pages ont été écrites par vous sur les hématozoaires des oiseaux et du singe analogues à celui de la malaria humaine, sur les piroplasmes, sur les trypanosomes. Ces trypanosomes qui, en Afrique, attaquent à la fois les hommes et les animaux, vous ont occupé particulièrement. Par la méthode des immu-

nisations croisées, vous identifiez les diverses espèces de trypanosomes, parfois si difficiles à distinguer entre elles et surtout vous cherchez les médicaments capables d'en débarrasser l'organisme. Le Traité des *Trypanosomes et Trypanosomiasés* que vous avez publié avec M. Mesnil est une œuvre magistrale à laquelle ont recours tous ceux qui désirent être documentés sur le sujet. En montrant que plusieurs animaux de laboratoire peuvent être infectés par les *Leishmania* vous avez facilité l'étude des affections causées par ces parasites.

Les travaux faits dans cette direction intéressent l'avenir des pays tropicaux et notamment de plusieurs de nos colonies. Ils sont de plus en plus nombreux en France, les chercheurs engagés dans la voie que vous avez montrée; aussi, leur a-t-il paru utile de fonder une société qui servirait de trait d'union entre eux. Ils se sont groupés autour de vous; et, depuis huit ans, vous présidez la Société de Pathologie exotique. Vous l'avez si bien dirigée, que, même dans les temps troublés que nous traversons, son activité n'a pas été atteinte. Le bulletin qu'elle publie est devenu indispensable à qui veut se tenir au courant de la pathologie des pays tropicaux.

Près de cinquante années se sont écoulées depuis vos premières productions scientifiques; ce demi-siècle de labeur n'a diminué ni votre dévouement à la science, ni vos forces. Toujours le premier arrivé au laboratoire, vous êtes la vivante démonstration que rien ne conserve mieux la santé morale et la santé physique qu'un travail ordonné et régulier.

Vous vous défendiez, cher Monsieur Laveran, contre toute manifestation à l'occasion de cet anniversaire, celle d'aujourd'hui est si intime qu'elle ne peut froisser votre modestie. Tous les camarades que la guerre tient éloignés s'y associent en pensée. Cette réunion nous permet de vous dire nos souhaits pour le succès des recherches que vous avez en chantier. Pour une fois, elle nous met à même de vous exprimer collectivement notre admiration pour votre œuvre, nos vœux affectueux pour votre personne, et notre reconnaissance pour le bel exemple que vous nous donnez par la dignité de votre vie et par l'élévation d'un caractère qui n'admit jamais de compromission.

16 juin 1915.

RÉPONSE DE M. LE D^r LAVERAN

Mon cher Président,

Je vous remercie sincèrement des paroles si cordiales, et beaucoup trop élogieuses pour moi, que vous venez de m'adresser au nom de l'Institut de France et au nom du Conseil de l'Institut Pasteur.

Mon cher confrère et ami,

Vous venez d'évoquer des souvenirs qui me sont chers ; mon père était un esprit large et libéral, il aimait la science et les travailleurs, vous deviez nécessairement, vous et lui, vous comprendre.

Je vous remercie d'avoir rappelé que j'avais été votre Maître il y a quarante ans, c'est un grand honneur pour moi de vous avoir compté parmi mes élèves ; heureusement pour vous, peu après avoir quitté le Val-de-Grâce, vous entriez dans le laboratoire du Maître des Maîtres, de Pasteur.

Après avoir résumé, avec votre précision et votre clarté habituelles, mes travaux sur l'hématozoaire du paludisme, vous avez ajouté que très probablement je n'aurais pas abouti si je m'étais engagé dans une des voies déjà suivies par mes prédécesseurs ; cela n'est pas douteux.

Si j'avais cherché, comme on l'avait fait jusqu'alors, l'agent du paludisme dans l'air, dans l'eau ou dans le sol des localités marécageuses, je ne l'aurais pas trouvé, par l'excellente raison qu'il n'existe, à l'état libre, dans aucun de ces milieux. C'est l'étude de l'anatomie pathologique qui m'a fourni les jalons nécessaires pour arriver au but.

Le protozoaire polymorphe que j'ai décrit, en 1880, comme étant l'agent du paludisme, était trop imprévu pour n'être pas mis en doute ; c'était la première fois que les médecins entendaient parler d'un hématozoaire endoglobulaire pathogène. Aujourd'hui, ces protozoaires sont légion et l'on s'étonne des oppositions si vives que j'ai rencontrées.

Il faut dire aussi que la technique pour l'étude de ces para-

sites n'existait pas ; la technique en usage pour l'étude des bactéries donnant ici de mauvais résultats, il fallut en créer une autre pour mettre en évidence la structure des nouveaux protozoaires.

Je vous remercie d'avoir rappelé que, dès 1884, j'ai signalé les moustiques comme étant vraisemblablement les hôtes intermédiaires et les agents de transmission de l'hématozoaire du paludisme. R. Ross, auquel revient l'honneur d'avoir fourni la démonstration de ce rôle des moustiques, rôle capital au point de vue de la prophylaxie du paludisme, a reconnu qu'il avait été utilement guidé par mes inductions.

Grâce à l'excellent accueil que M. Duclaux et vous-même, mon cher ami, m'avez fait à l'Institut Pasteur, lorsque j'ai quitté la Médecine militaire, grâce au laboratoire que vous avez mis à ma disposition, j'ai pu continuer mes travaux et faire les recherches sur les piroplasmoses, les trypanosomiasés et les leishmaniosés; que vous avez bien voulu mentionner.

Je vous remercie de vos bons souhaits pour la continuation de mes travaux, permettez-moi de vous adresser les miens : j'espère, nous espérons tous ici, que, longtemps encore, vous continuerez à diriger cette Maison de Pasteur qui nous est si chère et à la prospérité de laquelle vous avez tant contribué.

COMMENT LE BOUTON D'ORIENT SE PROPAGE-T-IL ?

par A. LAVERAN.

La découverte faite par J.-H. Wright du protozoaire, connu sous le nom de *Leishmania tropica*, qui est l'agent du bouton d'Orient, a mis à néant toutes les anciennes théories qui attribuaient cette dermatose aux conditions climatiques, aux eaux de mauvaise qualité, etc.; mais si nous savons pourquoi le bouton se développe, la question du mode d'introduction du germe pathogène dans l'économie reste obscure; c'est ce point particulier de l'histoire du bouton d'Orient que je me propose d'étudier.

I. LE BOUTON D'ORIENT EST INOCULABLE. — Des faits très nombreux démontrent que le bouton d'Orient est inoculable à l'homme et à différents animaux.

Dès 1854, Willemmin entreprend quelques expériences à ce sujet (1); il inocule, à Alep, 16 personnes: 6 enfants alepins, 9 étrangers, la plupart adultes, et un alepin âgé de dix-huit ans ayant eu le bouton dans son enfance; les inoculations faites avec le pus d'un bouton ulcéré provoquent dans 4 cas (2 enfants, 1 étranger et l'alepin âgé de dix-huit ans) l'apparition, au point d'inoculation, dès le quatrième ou cinquième jour, de boutons pustuleux qui, au bout de quinze à vingt jours, sont complètement cicatrisés. D'après ce que nous savons aujourd'hui de l'évolution du bouton d'Orient, le diagnostic des lésions provoquées dans ces cas doit être considéré comme douteux.

Weber essaye sans succès à Biskra, en 1873 et 1874, l'inoculation du bouton chez plusieurs personnes à l'aide du liquide séro-purulent de boutons ulcérés; mais, en 1875, il obtient des

(1) WILLEMIN, *Gaz. méd. de Paris*, 1854, p. 256.

résultats qu'il qualifie de certains (1) chez 2 personnes inoculées avec la croûte prise sur un bouton récent; la croûte réduite en poudre sert à charger une lancette à vaccin mouillée. Une des personnes inoculées est le Dr Moty; l'inoculation faite à la cuisse a pour conséquence, au bout de trois jours, l'apparition d'un clou de Biskra; 8 autres clous se développent successivement. La grande compétence des docteurs Weber et Moty, qui, à Biskra, avaient vu beaucoup de malades atteints du bouton, constitue évidemment une sérieuse présomption en faveur de leur diagnostic; mais, d'autre part, la très courte durée de l'incubation est bien anormale.

Depéret et Boinet, en 1884, décrivent un microcoque comme étant l'agent du bouton d'Orient et ils croient avoir reproduit le bouton chez l'homme (2 fois sur 6), chez le cobaye, le lapin, le chien et le cheval, à l'aide de cultures de ce microbe (2).

D'après Boigey, le germe du bouton d'Orient peut rester virulent dans les croûtes conservées d'une année à l'autre à l'abri de la lumière; 3 inoculations pratiquées dans ces conditions auraient donné des résultats positifs; les croûtes exposées pendant six heures à la lumière et à la chaleur solaire perdent, au contraire, leur virulence (3).

Loghman cite une série d'inoculations du bouton d'Orient faites avec succès par des médecins persans; les observations sont données trop succinctement pour qu'il soit possible d'apprécier leur valeur (4).

Les juifs de Bagdad, ayant constaté que, en général, le bouton d'Orient ne récidivait pas, pratiquaient naguère l'inoculation du bouton à leurs jeunes enfants, en choisissant à cet effet une partie du corps habituellement couverte par les vêtements; ils se proposaient d'éviter ainsi l'infection par les agents naturels et les vilaines cicatrices que laissent les boutons de la face ou des mains (5).

Les inoculations préventives sont encore en usage dans certaines régions d'Orient. Le Dr Saati de Mousul a fait connaître

(1) WEBER, *Rec. mém. de méd. militaire*, 1876, 3^e série, t. XXXII, p. 49.

(2) CH. DEPÉRET et ED. BOINET, *Archives de méd. militaire*, 1884, t. III, p. 296 et 321.

(3) BOIGEY, *Arch. gén. de méd.*, 1907, t. I, p. 613.

(4) MOHAMMED LOGHMAN, Thèse inaugurale, Paris, 1908.

(5) PATRICK MANSON, *Tropical Diseases*, 5^e édit., p. 217.

au Dr Wenyon qu'il avait pratiqué ces inoculations 36 fois environ et que les résultats avaient été très satisfaisants ; le bouton apparaissait au bout de deux mois environ (1).

Boigey (*op. cit.*) a vu des fusiliers de la compagnie de discipline en garnison à Biskra qui s'étaient inoculé le bouton pour se soustraire aux obligations du service militaire.

Les auto-inoculations sont souvent accidentelles ; l'affection étant prurigineuse, les malades s'excorient en se grattant et s'inoculent au voisinage de la lésion initiale ; on s'explique ainsi que le même malade soit en général porteur de plusieurs boutons.

L'étude expérimentale du bouton d'Orient, très difficile lorsqu'on ne connaissait pas l'agent pathogène, et qu'on n'expérimentait que sur l'homme, est devenue beaucoup plus facile et plus précise, depuis la découverte de la *Leishmania tropica* et de son inoculabilité à différentes espèces animales.

Marzinowsky a réussi à s'inoculer le bouton d'Orient en s'introduisant sous la peau de la main un petit lambeau de tissu très riche en parasites. La lésion est devenue visible soixante-dix jours après l'inoculation et, au bout de dix-sept jours, le bouton était bien formé. Le bouton qui fut excisé contenait de nombreuses *Leishmania*. Quelques jours après l'excision, un deuxième bouton se montra dans la cicatrice du premier ; excisé six mois après l'inoculation, le deuxième bouton était, comme le premier, bourré de *Leishmania* (2).

C. Nicolle et L. Manceaux ont pratiqué chez l'homme des inoculations à l'aide de cultures de la *L. tropica*. Les inoculations, faites par scarification de la peau de l'avant-bras, ont donné un résultat douteux ; par inoculation intradermique, un résultat positif a été obtenu après une incubation de six mois environ (3).

Wenyon (*op. cit.*) a inoculé une dame européenne à l'avant-bras gauche avec l'exsudat d'un bouton d'Alep riche en *Leishmania*. La scarification qui avait servi à l'inoculation

(1) C.-M. WENYON, *Parasitology*, octobre 1911, t. IV, p. 273.

(2) E.-J. MARZINOWSKY, *Zeitschr. für Hyg. und Infektionskr.*, 1907 et Thèse, Moscou, 1909.

(3) C. NICOLLE et L. MANCEAUX, *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1910, t. XXIV, p. 698.

guérit complètement, et c'est seulement au bout de sept semaines qu'un bouton typique se montra au point d'inoculation, sous l'aspect d'une petite papule.

Le même observateur s'est inoculé lui-même, par scarification, avec le matériel fourni par un bouton d'Orient, à Alep (1). Au bout de six mois et demi, alors qu'il était rentré en Angleterre, Wenyon fut pris de fièvre avec troubles intestinaux et il vit se développer, au point d'inoculation, une papule rouge ; peu après, deux papules plus petites apparurent au voisinage de la première. Des *Leishmania* furent trouvées dans ces papules. Au moment de l'inoculation, de la matière virulente avait été placée sur un point non lésé de la peau ; aucun bouton ne se développa en ce point, ce qui montre, dit Wenyon, que la *L. tropica* ne peut pas traverser la peau saine.

Patton s'est inoculé avec succès le bouton de Cambay ; l'incubation a été de seize jours seulement (2).

Nicolle et Sicre ont réussi à inoculer le bouton d'Orient à un *Macacus sinicus* (3). Nicolle et Manceaux ont inoculé avec succès au moyen du virus humain : un *Macacus cynomolgus*, un *M. rhesus* et un *M. inuus* ; 3 *M. sinicus* inoculés dans le derme avec des cultures de la *L. tropica* se sont également infectés. Avec le virus des boutons du singe, les auteurs ont réalisé l'inoculation en série du singe (3 passages) et 2 fois celle de l'homme. Le passage de singe à chien a également réussi (4).

Row a inoculé avec succès à un *M. sinicus* le virus humain du bouton de Cambay et il a obtenu des passages de singe à singe (5).

Laveran a inoculé avec succès des macaques au moyen de cultures de la *Leishmania* du bouton de Delhi et avec le virus fourni par des souris infectées par la *L. tropica* d'origine africaine (6).

(1) C.-M. WENYON, *Journ. London School of trop. med.*, juillet 1912, t. I, p. 224, 225.

(2) W.-S. PATTON, *Scientif. Mem. by Offic. of the med. a. sanit. Dep. of the Gov. of India*, 1912, n° 50.

(3) C. NICOLLE et A. SICRE, *Soc. de Biologie*, 20 juin 1908 et *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, juillet 1908.

(4) C. NICOLLE et L. MANCEAUX, *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1910 et *Soc. de path. exotique*, 8 mars 1911.

(5) R. ROW, *Brit. med. Journ.*, 24 septembre 1910.

(6) A. LAVERAN, *Soc. de path. exotique*, 9 octobre 1912 et 11 novembre 1914, *Annales de l'Institut Pasteur*, février 1915, t. XXIX, p. 80.

Nicolle et Manceaux ont reconnu que le bouton d'Orient était inoculable au chien (1).

Laveran a obtenu de beaux boutons chez des chiens en les inoculant sur des souris infectées par la *L. tropica* (2).

L'inoculation intradermique du virus du bouton d'Orient provoque, chez le singe et chez le chien, des accidents locaux qui ont la plus grande ressemblance avec ceux qu'on observe chez l'homme; l'infection locale ne se complique jamais, chez ces animaux, non plus que chez l'homme, d'infection générale. Chez la souris, au contraire, les accidents locaux se compliquent assez souvent d'infection générale (3); il peut même arriver que l'inoculation provoque d'emblée, chez cet animal, une infection générale (4).

Laveran a réussi à obtenir des infections localisées chez le rat blanc, chez le cobaye, chez le loir, chez *Meriones Shawi* et chez *Gerbillus hirtipes* (5); ces derniers animaux étant communs en Tunisie, il est intéressant de constater qu'ils sont sensibles au virus du bouton.

II. LE BOUTON D'ORIENT EST, DANS CERTAINES CONDITIONS, TRANSMISSIBLE, IMPORTABLE; IL SE DÉVELOPPE SOUVENT SUR DES EXCORIATIONS OU SUR D'AUTRES LÉSIONS CUTANÉES. — La contagiosité du bouton d'Orient a été contestée par un grand nombre d'auteurs, ce qui tient sans doute à ce que les conditions sont souvent défavorables à l'observation des faits de contagion. Dans les foyers endémiques, un grand nombre de personnes jouissent d'une immunité plus ou moins complète, acquise à la suite d'une première atteinte; la durée de l'incubation, souvent longue, est aussi une circonstance défavorable; enfin, en dehors des foyers endémiques, il arrive fréquemment que les conditions de température ou autres, nécessaires au développement

(1) C. NICOLLE et L. MANCEAUX, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 4 avril 1910 et *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1910.

(2) A. LAVERAN, *Soc. de path. exotique*, 9 décembre 1914 et observations inédites.

(3) A. GONDER, *Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, 1913. — A. LAVERAN, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 5 octobre 1914; *Soc. de path. exotique*, 11 novembre 1914 et 9 juin 1915; *Annales de l'Institut Pasteur*, février 1915.

(4) R. ROW, *Soc. de path. exotique*, 8 avril 1914.

(5) Observation inédite.

des *Leishmania*, et des insectes qui les propagent vraisemblablement, ne sont pas remplies.

Il existe, dans la science, bon nombre de faits qui montrent que le bouton d'Orient est transmissible, importable même en dehors de ses foyers, au moins dans certaines conditions.

Laveran cite le cas d'une femme qui fut atteinte de boutons de Biskra après avoir soigné sa fille âgée de six ans, qui présentait sur la face et sur les avant-bras une dizaine de boutons ulcérés, bien caractérisés (1).

Mohammed Loghman a vu à Téhéran, dans une famille dont un des membres était atteint du bouton d'Orient, deux autres cas se produire à quinze jours et à six semaines de distance (*op. cit.*).

Tomkinson cite le fait d'une famille ayant résidé dans le Punjab dans laquelle 3 enfants furent atteints de boutons après leur père; chez les 4 malades, les boutons siégeaient à la face (2).

Yakimoff, au Turkestan, a observé souvent plusieurs cas de boutons d'Orient dans une même famille : la mère et 2 enfants dans un cas, tous les membres d'une famille dans un autre cas (3).

La contagion paraît pouvoir se faire au moyen de linge servant en commun à des personnes atteintes du bouton et à des personnes saines.

Weber (*op. cit.*) cite le fait d'un pharmacien de l'hôpital militaire de Biskra qui, après avoir été se baigner aux eaux chaudes avec un de ses amis atteint de boutons d'Orient, et s'être servi de la même serviette, contracta la maladie à une époque où elle ne régnait plus.

Laveran (*op. cit.*) a cité un cas semblable qui se résume comme il suit :

« Marie Gros, âgée de douze ans et demi, arrivée à Biskra, le 15 septembre 1878, venant de Constantine, a eu les fièvres intermittentes à Constantine; anémie consécutive. Marie Gros est la sœur de la femme du concierge de l'hôpital militaire, elle emploie pour se laver et pour s'essuyer la figure, les

(1) A. LAVERAN, *Ann. de dermat. et de syphiligr.*, 1880, 2^e série, t. I, p. 173.

(2) J.-G. TOMKINSON, *Brit. med. Journ.*, 10 octobre 1914.

(3) W.-L. YAKIMOFF, *Soc. de path. exotique*, 21 juillet 1915.

mêmes serviettes que sa sœur, laquelle porte sur différents points du corps, et notamment à la face, de nombreux boutons de Biskra recouverts de croûtes. Dès la fin du mois d'octobre, Marie Gros est atteinte de boutons endémiques qui se développent lentement et sans douleur sur les joues et sur les parties latérales du front d'abord, puis sur les avant-bras.

« Au mois de novembre, époque à laquelle nous examinons la malade, les boutons de la face et des avant-bras ont un aspect caractéristique; ils ont la forme de plaques recouvertes au centre d'une croûte grisâtre, épaisse, saillante, très sèche et très adhérente, avec des croûtes accessoires autour de la première. »

Brault, à Alger, a observé un bouton d'Orient chez une dame âgée, européenne, qui avait vu la dermatose se développer à la suite d'un bain pris dans un établissement public; elle s'était essuyée avec un linge un peu doux (1).

Boigey (*op. cit.*) cite le cas de 4 enfants d'un médecin de Biskra atteints de boutons après avoir utilisé du linge lavé par des indigènes atteints de boutons siégeant aux mains.

C'est un fait avéré, très intéressant au point de vue de l'étude qui nous occupe, que le bouton d'Orient se développe souvent sur des excoriations ou sur d'autres lésions cutanées.

Ce fait est si frappant que, dans le premier travail publié sur le bouton de Biskra, il en est fait mention : « La moindre écorchure, écrit Poggioli, la plus petite piqure (nos soldats y étaient assez exposés en abattant des palmiers) devenaient immédiatement le siège de la maladie » (2).

Tous les boutons d'acné ou autres que l'on déchire par des frottements manuels se transforment, dit Alix, en clous de Biskra (3).

Sériziat a pu soutenir que les boutons de Biskra avaient toujours pour point de départ des écorchures de la peau; il a vu de ces boutons qui avaient incontestablement pour origine des piqures de moustiques (4).

La propagation du clou de Biskra semble se faire, écrit Weber, par l'inoculation de points excoriés (5).

La gale bédouine précède souvent, en Algérie, l'apparition des boutons d'Orient (Beylot, Sériziat, etc...).

(1) J. BRAULT, *Ann. de dermat. et de syphil.*, 1899, 3^e série, t. X, p. 85.

(2) P.-J. POGGIOLI, Thèse inaugurale, Paris, 1847, p. 15.

(3) ALIX, *Rec. mém. de méd. militaire*, février 1870.

(4) SÉRIZIAT, *Études sur l'oasis de Biskra*, 1875, p. 112.

(5) WEBER, *Rec. mém. de méd. militaire*, 1876.

Laveran (*op. cit.*) a vu, à Biskra, des boutons qui s'étaient greffés sur des pustules d'acné ou d'impetigo, sur des plaies consécutives à des brûlures ou à l'application de vésicatoires, enfin sur des pustules vaccinales, comme en témoignent les observations suivantes.

1° « Simon, soldat au 3^e bataillon d'Afrique, est revacciné le 29 novembre 1878 à l'hôpital militaire de Biskra. La revaccination est faite de bras à bras; l'enfant qui sert de vaccinifère ne porte pas trace d'éruption à la surface du corps. Huit jours après la revaccination, nous constatons qu'il existe trois belles pustules vaccinales. Les jours suivants, ces pustules s'enflamment et se recouvrent de croûtes. Le 7 janvier 1879, nous revoyons le malade et nous constatons qu'il existe trois boutons de Biskra bien caractérisés à l'endroit même où siégeaient les pustules vaccinales. En dehors des pustules, on trouve sur le bras un quatrième bouton. Antérieurement, le malade n'avait jamais eu d'éruption de ce genre. »

2° « Prieur, soldat au 3^e bataillon d'Afrique, est revacciné le 29 novembre 1878 à l'hôpital militaire de Biskra; la revaccination est faite de bras à bras; l'enfant qui sert de vaccinifère ne porte pas trace d'éruption à la surface du corps. Huit jours après la revaccination, nous voyons le malade pour constater le résultat de l'opération et nous inscrivons sur le registre des vaccinations : *succès incertain*. Le 7 janvier 1879, nous avons l'occasion d'examiner de nouveau le malade, il existe au niveau d'une des piqûres vaccinales un clou de Biskra très bien caractérisé. Prieur n'avait eu antérieurement aucune éruption de ce genre. »

Au sujet de ces cas, Laveran fait remarquer qu'à Biskra on fera bien, à moins d'épidémie variolique menaçante, de pratiquer les vaccinations et revaccinations en dehors de la période endémique du bouton.

Hussenet signale que le bouton de Gafsa se développe facilement sur les plaies; la plaie devient ulcéreuse en s'entourant d'un bourrelet inflammatoire et d'un cercle de nodules (1).

Moty constate que le bouton de Biskra qui se greffe souvent sur de simples écorchures de la peau ne complique jamais les plaies d'une certaine étendue recouvertes de bourgeons charnus, alors même qu'elles sont assez mal protégées par les pansements (2).

« A l'époque favorable au développement du bouton d'Orient écrit Jeanselme, toute solution de continuité des téguments est

(1) HUSSENET, cité par DEPÉRET et BOINET, *Arch. de méd. militaire*, 1884, t. III, p. 328.

(2) MOTY, *Ann. de dermat. et de syphil.*, 1893, 3^e série, t. IV, p. 371.

une porte d'entrée pour la maladie; les ulcérations se développent également sur les petites plaies, les boutons d'acné, les éléments d'impetigo, les pustules vaccinales » (1).

Boigey a fait l'expérience suivante : des croûtes de bouton d'Orient ont été appliquées sur la peau saine chez 6 sujets et maintenues en place pendant 3 jours avec résultats négatifs; au contraire, chez 4 indigènes excoriés aux jambes, l'application des croûtes, au niveau des excoriations, a donné naissance à des boutons (2). Une solution de continuité de l'épiderme paraît nécessaire, dit Boigey, pour que le bouton puisse éclore.

Le Dr Bussière a vu le bouton d'Orient se développer sur des plaies banales de deux de ses serviteurs, plaies contractées en travaillant dans le port de Bender-Bouchir (3).

Le Dr Ufferte, ayant séjourné quarante-huit heures à Gafsa au mois de septembre 1914, alors qu'il avait des excoriations aux mains, fut atteint quinze jours après de boutons verruqueux au niveau des excoriations (4).

Mantegazza a constaté le développement du bouton sur une plaie du front chez un soldat revenant de Libye (5).

Mantovani, à Ravenne, a observé un cas de leishmaniose cutanée, chez un homme de soixante-six ans, à la suite d'une blessure du pied mal soignée (6).

Le bouton d'Orient peut être importé en dehors de ses foyers ordinaires; si les conditions climatiques sont défavorables, la maladie disparaît rapidement; si elles sont favorables, de nouveaux foyers d'endémicité sont créés.

D'après Cardamatis, le bouton d'Orient a été introduit en Crète en 1836 par des soldats ottomans, originaires de cette île, qui avaient contracté le mal en Syrie, pendant la campagne contre les Druses (7).

Depéret et Boinet rapportent qu'un bataillon du 38^e régiment d'infanterie, envoyé en Tunisie en 1881, rentra en 1883,

(1) JEANSELME, *Cours de dermatologie exotique*, Paris, 1904, p. 213.

(2) BOIGEY, *Arch. gén. de médecine*, 1907, t. I, p. 614.

(3) BUSSIÈRE, cité par MOHAMMED LOGHMAN, *Thèse inaug.*, Paris, 1908.

(4) L. UFFERTE et J. PELLIER, *Ann. de dermat. et de syphil.*, juin 1913.

(5) MANTEGAZZA, *Malaria e malattia dei paesi caldi*, 20 juin 1914.

(6) M. MANTOVANI, *Pathologica*, 1^{er} février 1915.

(7) J.-P. CARDAMATIS, *Soc. de path. exotique*, 12 mai 1909.

au camp de Sathonay, près de Lyon, et que 25 cas de boutons d'Orient furent constatés à l'arrivée. Non seulement de nouveaux cas se développèrent à Sathonay chez des hommes qui avaient été en Tunisie, ce qui peut s'expliquer par la longueur de l'incubation, mais un homme qui n'avait été ni en Tunisie, ni en Algérie, fut atteint, ainsi qu'un infirmier chargé spécialement de donner des soins aux malades porteurs de boutons de Gafsa (1).

M. Nicolle et Noury-Bey écrivent, au sujet du bouton d'Alep : « L'affection semble contagieuse de l'homme à l'homme; des personnes d'Alep ont parfois transporté le mal dans des régions de l'Asie-Mineure où il était inconnu » (2).

En Afrique, les foyers endémiques du bouton sont moins exactement circonscrits qu'on ne le croyait naguère; des cas isolés ont été observés à Alger par Brault, dans la vallée du Sebaou par Gros, à Flatters (Tell Algérien) par Cambillet, dans la région de Zinder par Stévenel, près du lac Tchad par Benoit-Gonin, au Niger par Wagon, dans le Sud marocain (Haut-Guir) par Foley, Vialatte et Adde (3).

Je rappellerai enfin que des cas assez nombreux de boutons d'Orient ont été signalés, dans ces dernières années, en Italie méridionale, en Sicile et en Grèce (4).

Il est bien certain que la maladie, lorsqu'elle s'était produite en dehors de ses foyers, a été souvent méconnue; aujourd'hui, le diagnostic de la leishmaniose cutanée étant devenu facile, il est probable que les faits d'importation en dehors des foyers endémiques iront en se multipliant.

III. RÔLE DE CERTAINS INSECTES, DE LA MOUCHE DOMESTIQUE NOTAMMENT, DANS LA PROPAGATION DU BOUTON D'ORIENT. — Le fait que le bouton d'Orient se développe d'ordinaire sur les parties du corps non protégées ou mal protégées par les vêtements

(1) DEPÉRET et BOINET, *Arch. de méd. militaire*, 1884, t. III, p. 296.

(2) M. NICOLLE et NOURY-BEY, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1897, t. XI, p. 777.

(3) BRAULT, *Ann. de dermat. et de syphil.*, 1899. — GROS, *Soc. de path. exotique*, 9 juin 1909. — CAMBILLET, *même Société*, 21 juillet 1909. — STÉVENEL, *même Société*, 12 avril 1911. — WAGON, *même Société*, 12 novembre 1913. — FOLEY, VIALATTE et ADDE, *même Société*, 11 février 1914.

(4) FR. LACAVA, *Malaria e malattie dei paesi caldi*, 1913, t. IV, p. 352. — P. CARDAMATIS, *Soc. de path. exotique*, 12 mai et 21 juillet 1909.

semble indiquer, ainsi que bon nombre d'observateurs l'ont fait remarquer déjà, que le virus est propagé par un insecte ailé. Les puces, les poux de corps et les punaises piquent plus souvent le tronc et la racine des membres que la face et les extrémités des membres, qui sont les lieux d'élection du bouton.

Punaises. — Les punaises ont été cependant incriminées; Patton a fait de nombreuses et très patientes recherches avec *Cimex rotundatus*, punaise très commune aux Indes (1).

Patton a élevé, à Madras, un grand nombre de punaises (trois générations) et il les a emportées à Cambay, foyer endémique du bouton d'Orient. Là, les punaises ont été nourries en juin, juillet et août sur un sujet atteint de bouton d'Orient, les unes à proximité, les autres sur un point éloigné du bouton. Les punaises refusent de se nourrir sur les boutons ulcérés et leur trompe est trop courte pour qu'elles puissent atteindre, sur les bords des ulcères, les zones profondes, riches en parasites; elles se nourrissent donc de sang périphérique, et l'existence de *Leishmania tropica* dans la grande circulation est tout à fait exceptionnelle. Parmi les punaises nourries sur le sujet atteint de bouton, les unes ont été sacrifiées à différentes époques, dans le but de constater si elles s'étaient infectées et si la *Leishmania* se transformait dans leur tube digestif; les autres, transportées à Bombay, ont servi à des essais d'infection de l'homme.

Sur 250 punaises examinées dans une première expérience, des *Leishmania* d'aspect normal ont été trouvées très rarement; il n'y avait aucune forme flagellée.

Une enquête ayant montré que 95 p. 100 des boutons étaient contractés à Cambay pendant la saison froide, Patton résolut (on était alors au mois de juillet) de maintenir les punaises en expérience à une température de 23 à 25 degrés centigrades. A cet effet, les punaises, dans l'intervalle des sucées de sang, furent placées dans une petite boîte en fer-blanc entourée de glace. Le 8 août, en disséquant une nymphe, Patton trouva, dans l'estomac, des flagellés en petit nombre, ayant tous les caractères des formes de culture de la *L. tropica*. Il ne peut y

(1) W.-S. PATTON, *Scientif. mem. by Offic. of the med. a. sanit. Dep. of the Gov. of India*, new series, n° 50, 1912.

avoir, écrit Patton, aucun doute sur l'origine de ces flagellés, la punaise provenait de l'élevage de Madras; d'ailleurs, sur plus de 2.000 punaises provenant de différentes régions de l'Inde, aucune n'a été trouvée infectée naturellement de flagellés.

Patton ayant réussi à s'inoculer le bouton de Cambay (par inoculation sous-cutanée sur un sujet infecté naturellement) a répété l'expérience précédente à Madras, il a constaté que chez les punaises adultes, conservées à la température de 22 à 25 degrés centigrades, qui ont ingéré des *Leishmania*, les parasites se transforment en flagellés, mais que ces derniers sont toujours rares; ils ne forment pas de rosaces; d'autre part, les flagellés n'existent que dans l'estomac des punaises, on n'en trouve ni dans le rectum ni dans les glandes salivaires.

Les essais d'infection de l'homme à l'aide de punaises ayant sucé le sang d'un malade atteint de bouton faits à plusieurs reprises, à Bombay, sur des sujets n'ayant jamais eu le bouton, et avec un grand nombre de punaises, ont donné des résultats négatifs, néanmoins Patton croit pouvoir conclure de ses recherches que *Cimex rotundatus* est, à Cambay, le seul insecte transmetteur du bouton.

Schneider rapporte ce qui suit : une dame habitant aux environs de Téhéran est réveillée une nuit par une piqûre d'insecte à la joue, elle porte la main à l'endroit piqué et saisit une punaise; *peu de temps après*, elle est atteinte d'un bouton d'Orient qui siège exactement au point piqué par la punaise. L'année précédente, quatre enfants avaient été atteints de boutons dans le même logis connu comme infesté de punaises (1).

Patton cite, d'après miss Porter, le fait suivant : une jeune fille recueillie, à la suite d'un incendie, dans une maison de Bangalore habitée par des indigènes, trouve pendant la nuit une punaise qui piquait son avant-bras gauche; trois mois après, un bouton d'Orient se développe au point piqué. Le bouton n'est pas endémique à Bangalore, mais la famille indigène arrivait de Cambay.

D'après le lieutenant-colonel Ashton Street (2), un officier

(1) J.-E.-J. SCHNEIDER, *Soc. de path. exotique*, 10 février 1909, *Bulletin*, t. II, p. 91.

(2) Cité par PATTON, *op. cit.*

eut plusieurs boutons à Karachi *peu de jours après* avoir été piqué par des punaises dans l'hôtel où il était descendu.

Ces faits ne fournissent évidemment qu'un bien faible appui à l'opinion émise par Patton. Dans deux des observations l'incubation a été d'une brièveté anormale.

Wenyon a institué, à Bagdad, des expériences sur le rôle des punaises (*Cimex lectularius*) dans la transmission du bouton d'Orient; bien que les punaises soient très rares à Bagdad, Wenyon a réussi à s'en procurer un certain nombre qu'il a nourries sur des boutons. De 12 punaises ayant piqué une seule fois, 2 furent disséquées 24 heures après la sucée infectante, 8 au bout de 48 heures, et les deux dernières au bout de 72 heures. Des formes de développement des *Leishmania* furent trouvées dans une des punaises sacrifiées au bout de 24 heures, et dans trois de celles sacrifiées au bout de 48 heures.

Quatre jeunes punaises, écloses au laboratoire et nourries sur des boutons, furent disséquées avec résultat négatif au point de vue de l'existence de *Leishmania* (1).

Sur 72 punaises provenant de la prison qui furent disséquées, aucune n'était infectée par des flagellés.

D'après Wenyon, les flagellés trouvés dans quelques punaises nourries sur des boutons sont très probablement des formes de culture de *L. tropica*; la culture se produit dans l'estomac de la punaise comme elle se produirait *in vitro*, mais elle avorte bientôt. Cette interprétation est d'accord avec ce fait, signalé par Patton, que la transformation des *Leishmania* dans les punaises ne se fait pas à une température supérieure à 25 degrés, ce qui a été noté aussi pour les cultures.

Schokhor s'est fait piquer, au Turkestan, à deux reprises, par des punaises nourries sur la main d'un malade au voisinage d'un ulcère à *Leishmania* (2); le résultat de l'expérience a été complètement négatif, négatif aussi l'examen du contenu du tube digestif des punaises ayant servi à l'expérience.

Yakimoff et Schokhor ont examiné, également sans succès, le contenu du tube digestif de punaises recueillies dans les lits

(1) C.-M. WENYON, *Parasitology*, octobre 1911, t. IV, p. 273-344 et *Journ. London School trop. med.*, décembre 1912.

(2) W.-L. YAKIMOFF, *Soc. de path. exotique*, 21 juillet 1915, *Bulletin*, t. VIII, p. 498.

de malades atteints de boutons d'Orient; nous ignorons quelle était la température extérieure au moment où ces recherches ont été faites.

Puces. — Wenyon (*op. cit.*) a essayé d'infecter *Pulex irritans* et *Ctenocephalus canis* en faisant piquer des puces sélectionnées sur des boutons d'Orient; il n'a obtenu aucune évolution des *Leishmania* dans le tube digestif de ces insectes. La fréquence des infections naturelles des puces par des flagellés constitue, pour ces expériences, une cause d'erreur, mais l'examen des excréta des puces permet de constater l'infection (méthode de Nöller), et d'éliminer les insectes parasités.

Poux. — Patton a fait sur des poux (*Pediculus vestimenti* et *P. capitis*) les recherches suivantes. Des poux, capturés à l'état adulte ou provenant d'élevages, ont été nourris à la partie marginale de boutons d'Orient ulcérés. Les insectes ont été ensuite disséqués à intervalles variés. Le tube digestif, les glandes salivaires et les autres organes, examinés à l'état frais ou sur frottis colorés, n'ont jamais montré de *Leishmania* normales ou modifiées. Les poux ne sont donc pas, dit Patton, les hôtes invertébrés du parasite du bouton. L'observation confirme ce résultat expérimental : les Indiens de la caste supérieure qui se lavent tous les jours, changent souvent de vêtements et n'ont presque jamais de poux, sont atteints de bouton aussi souvent que les gens du peuple qui se lavent très rarement, et sont couverts de vermine; des Européens qui ne peuvent pas être soupçonnés d'avoir des poux ne sont pas épargnés.

Parmi les insectes ailés suceurs de sang, on a incriminé principalement les moustiques, les simulies, les phlébotomes et certaines mouches piquantes.

Moustiques. — On a vu plus haut que, dès 1875, Sériziat déclarait avoir vu des boutons de Biskra ayant incontestablement pour origine des piqûres de moustiques.

Schulgin croyait que les moustiques étaient les agents de transmission du bouton d'Orient (1).

Ed. et Et. Sargent, ayant trouvé à Biskra un moustique nouveau : *Grabhamia subtilis* (2), ont recherché si cet insecte pouvait

(1) K.-J. SCHULGIN, *Russkii Vrach*, 1902, nos 32 et 33.

(2) ED. et ET. SERGENT, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 8 avril 1905.

propager le bouton; ils se sont fait piquer aux mains et aux avant-bras par un certain nombre de *G. subtilis*, en protégeant le mieux possible le reste du corps; l'expérience a été faite à Biskra, au mois de septembre 1904, époque à laquelle les boutons n'étaient pas rares; le résultat fut négatif.

Billet cite le fait d'une dame habitant Ismaïlia qui, piquée par un moustique sur un sein, au moment où elle allaitait son enfant, vit survenir, *quelques jours après*, un bouton d'Orient juste à l'endroit de la piqûre (1). L'incubation aurait été dans ce cas très courte. Billet rappelle que *Anopheles Chaudoyei*, dont la présence a été constatée à Ismaïlia, est commun en Algérie dans les foyers d'endémicité du bouton, et il émet l'opinion que peut-être ce culicide est l'agent de transmission de la maladie.

Wenyon a procédé, à Bagdad, à de nombreuses expériences sur *Culex fatigans* et *Stegomyia fasciata* (*op. cit.*).

De 31 *C. fatigans* nourris sur des boutons, et disséqués 24, 48 et 72 heures après la sucée de sang, aucun ne montra trace d'infection par *L. tropica*.

Les *Stegomyia* piquèrent beaucoup plus facilement que les *C. fatigans*, ce qui permit de multiplier les expériences et de nourrir ces moustiques toutes les 24 heures sur les boutons. Chez 10 p. 100 des insectes, des *Leishmania* furent trouvées dans le tube digestif immédiatement après la sucée. Dans un *Stegomyia* nourri à deux reprises sur un bouton, et disséqué 24 heures après la dernière sucée, on trouva des formes arrondies ressemblant aux formes des cultures récentes de *L. tropica*. Dans 5 autres *Stegomyia*, nourris de 4 à 10 fois sur bouton, et disséqués 24 à 48 heures après la dernière sucée, il existait des formes flagellées. 80 *Stegomyia* en tout ont été nourris de 5 à 10 fois sur des boutons. 6 douzaines de *Stegomyia* ont été nourris une ou plusieurs fois sur des hommes sains, et chez aucun de ces moustiques, la dissection n'a révélé l'existence de flagellés. Wenyon estime que les flagellés trouvés chez quelques-uns des moustiques nourris sur des boutons sont très probablement des formes de développement des *Leishmania*. Chez les moustiques nourris avec des

(1) A. BILLET, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 30 juin 1906.

cultures de *L. tropica*, les parasites disparaissent rapidement.

26 *Stegomyia* nourris de 1 à 10 fois sur un bouton ont été ensuite nourris sur un bras de Wenyon; le résultat a été entièrement négatif; chez deux des moustiques ayant servi à cette expérience, l'existence de flagellés fut constatée.

A Cambay (Inde), un *Stegomyia* sp. est très commun toute l'année; il est très vorace, et pique souvent à travers les vêtements. Un grand nombre de moustiques de cette espèce, nés au laboratoire, furent nourris les uns à la marge d'un bouton, les autres à une certaine distance. Examinés à des intervalles réguliers, ces moustiques ne montrèrent pas trace de *Leishmania*; ils n'étaient pas infectés naturellement d'*Herpetomonas*. Il ne semble pas, dit Patton, que ce *Stegomyia* soit l'agent de transmission de *L. tropica* (1).

Yakimoff au Turkestan (*op. cit.*) a examiné le tube digestif de 160 *Anopheles* ou *Culex* capturés au voisinage de sujets atteints de bouton et chez aucun il n'a trouvé de *Leishmania*.

Simulies. — Fink a appelé l'attention sur le rôle possible des simulies dans la propagation du bouton d'Orient, sans fournir, d'ailleurs, aucune preuve à l'appui de cette hypothèse (2). La piqûre des simulies qui est douloureuse, irritante, suivie de l'apparition d'une papule, passerait difficilement inaperçue.

Phlébotomes. — En 1903, Pressat signale un petit diptère qui semble jouer, dit-il, un rôle important dans la propagation du bouton d'Orient; le nom de l'insecte n'est pas donné, mais les caractères que lui assigne l'auteur et le dessin qu'il en donne ne permettent pas de méconnaître un phlébotome (3).

En 1904, Ed. et Et. Sargent se sont fait piquer, à Biskra, par une quinzaine de phlébotomes, sans résultat; Ed. et Et. Sargent, G. Lemaire et G. Sénevet, dans un travail publié en 1915 (4), constatent les résultats négatifs de nouvelles expériences,

(1) W.-S. PATTON, *op. cit.*

(2) G.-H. FINK, *Brit. med. Journ.*, 1909, t. II, p. 822.

(3) A. PRESSAT, *Le paludisme et les moustiques*, 1905, planche III. — ED. SERGENT, *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1905, t. III, p. 626.

(4) ED. et ET. SERGENT, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 8 avril 1905. — ED. et ET. SERGENT, G. LEMAIRE et G. SÉNEVET, *Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1915.

faites également à Biskra, avec le *Phlebotomus minutus africanus*; les piqûres des phlébotomes et l'inoculation sur la peau abrasée, ou sous la peau, du liquide obtenu par leur broyage, pratiquée chez l'homme, chez le singe ou chez la souris, n'ont donné que des insuccès; nous reviendrons sur ces recherches à propos de la question de l'existence d'un hôte intermédiaire de la *L. tropica*.

Patton à Cambay (*op. cit.*) a trouvé, pendant la saison des pluies, un *Phlebotomus* sp.; il fut piqué, sans résultat, par quelques-unes de ces mouches. Quatre phlébotomes pris dans l'hôpital furent disséqués avec résultat négatif. Pendant la saison froide, ces phlébotomes sont introuvables à Cambay, d'après Patton, et c'est pendant cette saison qu'on contracte le plus souvent le bouton.

Hippobosques. — Gachet a constaté, à Téhéran, que les chiens, souvent atteints de leishmaniose cutanée, sont pour la plupart, porteurs de *Hippobosca canina*, et il a supposé que ce diptère piquant jouait un rôle dans la transmission du bouton d'Orient connu en Perse sous le nom de *salek* (1). Gachet a examiné des hippobosques qui venaient de se gorger de sang sur une ulcération des naseaux et de la joue d'un chien et il a constaté l'existence de *Leishmania*; le même observateur rapporte que deux personnes contractèrent le bouton après avoir été piquées par *H. canina*.

Dans beaucoup de régions où le bouton est endémique, la leishmaniose cutanée du chien est inconnue et l'existence de *Hippobosca canina* n'a pas été signalée, le mode de transmission du bouton indiqué par Gachet serait donc spécial à la Perse et peut-être à quelques contrées voisines. Il est possible que le grand nombre des *H. canina*, à Téhéran, soit la cause de la fréquence insolite de la leishmaniose cutanée du chien.

Stomoxes. — Wenyon (*op. cit.*) a constaté quelquefois l'existence de *Leishmania* dans le tube digestif de stomoxes nourris sur des boutons; dans aucun cas une évolution des parasites n'a été notée.

On voit que le rôle des insectes piquants incriminés comme propagateurs du bouton d'Orient est loin d'être avéré; il se

(1) GACHET, *Bull. de l'Acad. de Médecine*, 20 avril 1915.

peut, toutefois, que ces insectes aient un rôle indirect : leurs piqûres irritantes provoquent des démangeaisons souvent très vives, suivies de grattage et d'égratignures de l'épiderme qui peuvent servir de portes d'entrée au virus convoyé par les mouches domestiques dont il me reste à parler (1).

Mouches domestiques. — Ces mouches, si dangereuses au point de vue de la propagation de la fièvre typhoïde, de la dysenterie, du choléra et de la tuberculose, paraissent jouer aussi un rôle important dans la propagation du bouton d'Orient.

En 1880, j'écrivais : « Nous avons vu qu'aux mois de septembre et d'octobre les moindres plaies avaient de la tendance à se transformer en boutons endémiques ; or, à cette époque, les mouches abondent à Biskra, et elles se groupent avec acharnement autour des moindres écorchures ; il ne nous semble pas douteux que les mouches puissent transporter, au bout de leurs pattes ou de leurs suçoirs, le principe actif du bouton (2). »

Des boutons se produisent encore en hiver, alors que les mouches sont, à Biskra, beaucoup moins nombreuses et moins actives qu'en automne, mais il faut tenir compte de ce fait que l'incubation est souvent de 2 à 3 mois, parfois plus longue encore.

Les mouches, dit Carter, peuvent propager l'infection à des érosions de la peau, le bouton d'Orient paraît exercer sur elles une fascination particulière, des essaims de mouches domestiques tourmentent sans cesse les malades atteints de boutons ulcérés. D'après le même observateur, les flagellés des cultures de *L. tropica*, quand ils sont absorbés par *Musca domestica*, peuvent vivre au moins 48 heures dans le tube digestif (3).

(1) Je suis arrivé à la même conclusion en ce qui concerne le rôle des insectes piquants dans la propagation de la leishmaniose américaine (*Soc. de path. exotique*, 9 juin 1915, *Bulletin*, t. VIII, p. 388).

(2) A. LAVERAN, *Ann. de dermat. et de syphil.*, 1880, 2^e série, t. I, p. 194. — CASTELLANI et CHALMERS et PATTON citent SÉRIZIAT comme ayant signalé, dès 1875, le rôle de la mouche domestique dans la transmission du bouton d'Orient ; j'ai relu le chapitre que SÉRIZIAT a consacré à l'ulcère saharien dans ses *Études sur l'oasis de Biskra* et j'ai constaté qu'il n'y était pas question des mouches ; d'ailleurs SÉRIZIAT pensait que l'ulcère saharien était la résultante d'une cachexie produite par le climat saharien, il ne supposait donc pas qu'il existât un microbe spécifique susceptible d'être propagé par les mouches.

(3) R.-M. CARTER, *Brit. med. Journ.*, 11 septembre et 6 novembre 1909.

Nous allons voir que plusieurs observateurs se sont préoccupés, comme Carter, de savoir si la *L. tropica* pouvait traverser à l'état vivant le tube digestif de la mouche domestique qui, dans l'affirmative, serait infectieuse, non seulement en transportant mécaniquement des germes, mais aussi en hébergeant des *Leishmania* qui, éliminées dans les fèces, et déposées à la surface d'érosions cutanées, seraient capables de produire des boutons.

A Cambay, dit Row, le bouton règne à la fin de la saison des pluies et, l'incubation étant de 2 mois environ chez l'homme, l'infection se produit le plus souvent pendant la mousson, alors que les mouches abondent. L'exsudat des boutons constitue une grande attraction pour la mouche domestique, de telle sorte qu'il n'est pas rare de voir des malades dont les boutons sont assiégés par des essaims de mouches ; étant donné que l'exsudat des ulcérations est riche en parasites, et que les mouches se souillent avec cet exsudat et se posent ensuite sur d'autres personnes, il est admissible que la *Leishmania* puisse être transportée par elles, soit avec leurs pattes, soit plutôt avec les fèces, et qu'une écorchure ou égratignure accidentelle serve de porte d'entrée. Row admet que les parasites du bouton peuvent subir le cycle entier de développement en flagellés dans le tube digestif de la mouche (1).

Wenyon a constaté (*op. cit.*) à Bagdad que, chez les mouches domestiques qui viennent d'être nourries sur un bouton ulcéré, il est facile de trouver des *Leishmania* dans le tube digestif ; au bout de 5 heures, les parasites ont disparu. Dans une série d'expériences, des mouches furent nourries sur un bouton ulcéré à des intervalles de 24 heures, les unes une seule fois, les autres jusqu'à 10 fois ; les mouches étaient conservées à des températures variées ; l'examen du tube digestif était fait 24 heures après la dernière sucée. Dans tous les cas, les résultats furent négatifs au point de vue du développement des *Leishmania*. L'examen des fèces des mouches nourries sur des boutons fut aussi négatif. Des expériences faites en nourrissant les mouches avec des cultures de *L. tropica* montrèrent que les parasites disparaissaient rapidement.

(1) R. Row, *Brit. med. Journ.*, 24 septembre 1910.

Wenyon pense que la mouche domestique est quelquefois l'agent de transmission du bouton, mais que l'agent ordinaire est probablement un moustique ou un phlébotome; il n'a pas expérimenté sur les phlébotomes.

Cardamatis et Melissidis ont fait sucer par 8 mouches domestiques le produit d'excrétion de boutons d'Orient contenant des *Leishmania*; les mouches conservées dans un flacon, et nourries, ont été sacrifiées de 78 heures à 9 jours après la première sucée. Les résultats des examens des mouches ont été positifs dans 2 cas, négatifs dans les 6 autres. Les mouches chez lesquelles des *Leishmania* en assez grand nombre ont été trouvées avaient été sacrifiées le 3^e et le 5^e jour après la sucée. Les auteurs concluent que la *L. tropica* peut vivre, pendant 6 jours au moins, dans le tube digestif des mouches et s'y développer, et que les fèces des mouches parasitées, mises en contact avec des excoriations de la peau, peuvent probablement produire le bouton d'Orient (1). Les auteurs ne disent pas comment ils se sont mis à l'abri de la cause d'erreur provenant de la présence fréquente dans les mouches d'*Herpetomonas* pouvant être confondus avec des *Leishmania* à certains stades de leur évolution.

Patton (*op. cit.*) a fait, à Cambay (Inde), de nombreuses expériences sur *Musca nebulo* (2), et *Musca* sp. dans le but de rechercher si ces diptères pouvaient convoyer le germe du bouton d'Orient. Des écorchures et abrasions furent pratiquées sur la main gauche de Patton, après quoi des mouches qui avaient sucé le produit d'excrétion d'un bouton ulcéré furent déposées, à plusieurs reprises, sur la main et se nourrirent de la sérosité qui suintait. Le résultat de cet essai d'inoculation fut négatif; Patton en conclut que la mouche domestique ne peut pas transporter mécaniquement le germe du bouton, ce qui me paraît être une conclusion trop générale pour une expérience unique; Patton convient d'ailleurs que les faits indiscutables d'auto-réinoculation par grattage, chez des sujets

(1) J.-P. CARDAMATIS et A. MELISSIDIS, *Société de path. exotique*, 12 juillet 1911.

(2) PATTON ne dit pas à quelle époque cette expérience a été faite; on a vu plus haut qu'il s'est inoculé avec succès le bouton d'Orient (par inoculation sous-cutanée) le 24 décembre 1910. *Musca nebulo*, qui diffère très peu de *M. domestica*, est la mouche de maison la plus commune dans l'Inde méridionale.

atteints du bouton d'Orient, sont en faveur de la transmission mécanique par les mouches.

Un grand nombre de mouches provenant de larves, nourries au laboratoire, et ayant sucé le produit d'excrétion de boutons ulcérés ont été disséquées par Patton. L'examen des différentes portions du tube digestif a montré que des *Leishmania* pouvaient être trouvées, dans l'intestin moyen, seulement pendant les 6 premières heures qui suivaient la sucée; après ce temps, les parasites dégénèrent et disparaissent. Jamais aucun parasite n'a été vu dans la dernière portion du tube digestif. Patton conclut que les *Leishmania* ne se développent pas dans le tube digestif des mouches et que, par conséquent, l'infection ne peut pas être propagée par les fèces de ces insectes.

Martoglio a publié trois cas de boutons d'Orient chez des Abyssins; dans les trois cas, le bouton s'était greffé sur des lésions cutanées; les mouches domestiques qui abondent en Abyssinie jouent probablement, dit Martoglio, un rôle dans la transmission de la maladie (1).

Il me semble indiscutable que des mouches qui ont séjourné sur des boutons d'Orient ulcérés, et qui ont souillé leurs pattes et leurs trompes avec les produits d'excrétion, peuvent transporter mécaniquement des *Leishmania*, de même que les sujets atteints de bouton les transportent avec leurs ongles. J'ai fait, le 31 juillet 1915, l'expérience suivante.

Une quarantaine de mouches domestiques capturées à Paris, à l'Institut Pasteur, indemnes d'*Herpetomonas*, sont nourries avec le produit du broyage d'une tumeur à *Leishmania* d'une souris. Au bout de 30 minutes, 3 des mouches servent à faire des frottis sur des lames porte-objet enduites d'une légère couche d'albumine glycérine; les mouches intactes sont frottées légèrement par la partie ventrale, de manière à ce que les extrémités des pattes et la trompe portent sur la lame de verre, le frottis est ensuite fixé et coloré au Romanowsky. Deux des frottis contiennent des *Leishmania*; l'examen du troisième frottis est négatif. Le 1^{er} août, je dissèque 4 mouches ayant pris part à l'expérience et je ne trouve aucune *Leishmania* dans le tube digestif.

(1) F. MARTOGGIO, Il bottone orientale in Abissinia, extrait du volume publié en l'honneur du professeur Celli, 1912.

Les mouches auxquelles adhèrent des *Leishmania* sont incapables d'inoculer ces microbes, mais elles peuvent évidemment les déposer sur les plaies ou les écorchures qu'elles visitent après s'être souillées, et l'observation nous apprend qu'en effet le bouton d'Orient se greffe souvent sur les lésions légères de la peau consécutives, par exemple, aux piqûres des moustiques et au grattage qu'elles provoquent.

IV. DES ANIMAUX SERVENT-ILS DE RÉSERVOIRS AU VIRUS DU BOUTON D'ORIENT? — La leishmaniose cutanée se rencontre à l'état d'infection naturelle chez le chien, mais avec une fréquence très variable suivant les régions. Cette dermatose signalée, dès 1854, par Willemin chez 2 chiens à Alep, est si répandue à Téhéran que, sur 21 chiens pris au hasard dans une des rues les plus fréquentées, 15 étaient porteurs d'ulcérations à *Leishmania* (Gachet, *op. cit.*). On conçoit que, dans ces conditions, les chiens puissent servir au virus de réservoir et jouer un grand rôle dans la propagation du bouton d'Orient, d'autant que leurs ulcérations, non pansées, se prêtent mieux que celles de l'homme à la diffusion des germes. Mais cette grande fréquence de la leishmaniose cutanée du chien est exceptionnelle. Au Turkestan (von Petersen et Yakimoff) et au Caucase (Marzinowsky), la maladie existe mais elle est rare (1); dans les foyers endémiques de l'Afrique du Nord et de l'Inde, elle n'a pas été notée jusqu'ici; le rôle du chien dans la propagation de la *L. tropica* est donc très limité. Plusieurs observateurs ont signalé le chameau comme sujet au bouton d'Orient, nous ne savons rien de précis à cet égard.

On a vu plus haut que, dès 1905, Ed. et Et. Sergent avaient incriminé les phlébotomes; comme il a été établi que ces diptères se nourrissaient le plus souvent sur des lacertiens et en particulier sur le gecko ou tarente (2), ces observateurs ont été conduits à faire des recherches sur la tarente considérée comme réservoir du virus du bouton d'Orient (3).

(1) VON PETERSEN, *Arch. für Dermat. und Syphil.*, 1914. — W.-L. YAKIMOFF, *op. cit.* — MARZINOWSKY, *Zeitschr. für Hyg. und Infektionskr.*, 1907.

(2) HOWLETT, *Indian Journal of med. Research*, juillet 1913. — E. ROUBAUD, *Soc. de path. exotique*, 14 janvier 1914.

(3) Ed. et Et. SERGENT, G. LEMAIRE et G. SÉNEVET, *Soc. de path. exotique*, 8 juillet 1914 et *Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1915.

L'ensemencement, en milieu de Novy simplifié, du sang et du suc hépatique de 229 tarentes (*Tarentola mauritanica*) capturées à Biskra, au mois d'octobre 1913, a donné 28 fois des *Leptomonas* ayant le même aspect que les cultures de *L. tropica*, 26 fois des trypanosomes et 7 fois une culture mixte de *Leptomonas* et de trypanosomes. Les formes trypanosomes, qui se rapportent sans doute au *Trypanosoma platydactyli*, seraient, d'après les auteurs, toujours bien distinctes des formes *Herpetomonas*.

D'autre part, Chatton et Blanc ont trouvé dans le sang de 8 geckos de Metlaoui (Tunisie) de petits éléments endoglobulaires ayant des analogies avec les *Leishmania* (1).

On a vu plus haut que toutes les tentatives pour produire le bouton chez l'homme, ou chez les animaux sensibles, à l'aide des phlébotomes (piqûres ou inoculation du produit de broyage), ont échoué; d'autre part, il paraît résulter des recherches de Laveran, que les lacertiens, et la tarente en particulier, sont réfractaires à la *L. tropica*, inoculée à l'état préflagellé ou flagellé (2).

Une dernière hypothèse consiste à supposer que les insectes piquants qui inoculent la *L. tropica* constituent eux-mêmes le réservoir du virus.

Laveran et Franchini ont montré qu'on pouvait produire des infections légères chez des Mammifères en leur inoculant des flagellés de puces ou de moustiques (3). Fantham et Annie Porter ont provoqué, chez la souris et chez le chien, des infections très voisines des leishmanioses avec *Herpetomonas jaculum* (de *Nepa cinerea*) et *Herpetomonas ctenocephali* (4). On peut concevoir que, dans certaines conditions climatiques, les *Herpetomonas* des phlébotomes ou des simulies, par exemple, deviennent pathogènes pour l'homme.

L'hypothèse de l'existence d'un réservoir de virus du bouton d'Orient, en dehors du réservoir constitué par les malades

(1) ED. CHATTON et G. BLANC, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 23 juillet 1914.

(2) A. LAVERAN, *Soc. de path. exotique*, 10 mars 1915.

(3) A. LAVERAN et G. FRANCHINI, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1^{er} septembre et 4 novembre 1913, 16 février et 16 mars 1914 et *Soc. de path. exotique*, 8 juillet 1914.

(4) H.-B. FANTHAM et ANNIE PORTER, *Proceed. Cambridge philosophic. Soc.*, 6 janvier et 14 juin 1915.

eux-mêmes, ne s'impose pas d'ailleurs. « Le bouton d'Orient, écrit C. Nicolle, a une incubation et une durée si longues (la première peut atteindre, la seconde dépasse souvent six mois) qu'aucun réservoir autre que l'homme n'est utile pour la conservation du virus de la saison où se prend le bouton d'Orient (août-septembre en Afrique Mineure), à la même saison de l'année suivante. D'autre part, dans nos enquêtes, aucun des animaux domestiques ou sauvages des régions infectées ne s'est montré atteint de leishmaniose localisée ou généralisée (1). »

CONCLUSIONS. — Le bouton d'Orient est inoculable à l'homme et à différents animaux : chien, singe, souris notamment; il est auto-inoculable; les malades transportent le virus avec leurs ongles et se l'inoculent en se grattant.

Le bouton d'Orient se développe souvent sur des lésions accidentelles de la peau; des linges souillés par le virus peuvent servir à la transmission.

Le fait que le bouton d'Orient se montre d'ordinaire sur des parties du corps non protégées par les vêtements semble indiquer que le virus est propagé par un insecte ailé.

La punaise a été cependant incriminée. Patton a constaté l'existence de *Leishmania* à l'état flagellé, toujours en petit nombre, dans l'estomac de punaises nourries sur des sujets atteints du bouton de Cambay; les parasites n'ont été vus ni dans les glandes salivaires ni dans la dernière portion du tube digestif. Toutes les tentatives faites pour obtenir des boutons d'Orient chez l'homme à l'aide de ces punaises ont échoué.

Parmi les insectes ailés, on a accusé surtout les moustiques et les phlébotomes. Chez des *Stegomyia* nourris à la marge de boutons ulcérés, Wenyon a trouvé des flagellés qui semblaient être un stade de développement des *Leishmania*, mais les essais d'inoculation du bouton à l'homme au moyen des *Stegomyia* infectés, ou paraissant tels, ont échoué; il en a été de même des essais d'inoculation faits à l'aide des phlébotomes.

Il est possible que les insectes piquants, sans être les agents directs d'inoculation de la *Leishmania tropica*, jouent un rôle

(1) C. NICOLLE, *Congrès d'Hyg. et de Démogr. de Washington*, septembre 1912, C. R., t. V, p. 631.

important en donnant lieu, par leurs piqûres irritantes, et par les égratignures consécutives au grattage, à de petites plaies qui servent de portes d'entrée au virus.

La mouche domestique, si dangereuse au point de vue de la propagation de la fièvre typhoïde, de la dysenterie, du choléra et de la tuberculose, paraît susceptible de transmettre aussi le bouton d'Orient (Laveran, Carter, Row, Wenyon, Cardamalis et Melissidis, Martoglio).

Dans les pays où le bouton d'Orient est endémique, la mouche domestique, très avide des excréta des ulcérations, se souille continuellement avec ces excréta et paraît beaucoup plus apte à la transmission des *Leishmania* sur des érosions de la peau que les insectes qui sucent le sang presque toujours loin des boutons, et qui par suite ont peu de chances de s'infecter, la *L. tropica* ne se trouvant presque jamais dans le sang périphérique.

La mouche domestique n'opère qu'un transport mécanique de la *L. tropica* qui ne paraît pas susceptible d'évoluer chez elle.

On s'est demandé si certains animaux pouvaient servir de réservoir au virus du bouton d'Orient. Le chien seul semble apte à jouer ce rôle dans les régions où la leishmaniose cutanée canine est commune, à Téhéran par exemple. Partout ailleurs ce sont les malades atteints de boutons qui paraissent constituer le seul réservoir du virus. De nouvelles recherches sur cette question s'imposent d'ailleurs.

Il est possible que l'espèce *L. tropica* comporte des variétés et que les modes de transmission du bouton diffèrent d'une zone d'endémicité à l'autre. Cela permettrait de comprendre certaines divergences qui existent entre les observateurs, suivant que leurs recherches ont été faites, par exemple, aux Indes ou en Algérie.

RECHERCHES CYTOLOGIQUES DANS LE TÉTANOS HUMAIN

par Y. MANOUÉLIAN
de l'Institut Pasteur de Paris.

(Avec les planches VIII et IX.)

Peut-on déceler par la méthode histologique des modifications que le passage de la toxine tétanique fait subir aux neurones moteurs périphériques? Voilà le but de ce travail.

En utilisant la méthode de fixation au sublimé à alcool acétique de Gilson et la méthode de Mann au bleu de méthyléosine pour l'étude histo-neurologique du tétanos humain, nous avons découvert dans le cytoplasme et dans les expansions cytoplasmiques des cellules nerveuses de la moelle épinière, surtout dans les neurones de la corne antérieure, des corpuscules particuliers colorés en violet rouge ou rouge franc de dimension inégale et de forme variable.

Disposés d'une façon plus ou moins régulière, ces corpuscules paraissent en voie d'évolution : on peut en effet saisir les différentes phases de leur transformation ; ils se colorent faiblement en rouge, à un autre stade ils prennent le bleu, puis ils deviennent de plus en plus pâles (planche VIII, fig. 1, 3, 2, 5, 4). Ce qu'il y a de remarquable, c'est que ces éléments manquent absolument dans les cellules nerveuses de la corticalité cérébrale, la corne d'Ammon, etc., ils n'existent que dans les centres ponto-bulbo-médullaires et surtout dans les cellules nerveuses motrices, qui sont comme on sait en hyperactivité sous l'influence de la toxine tétanique.

D'où viennent ces corpuscules? Normalement, la méthode de Mann ne décèle rien de particulier dans le cytoplasme de ces cellules ; même les granulations de Nissl se colorent fort mal ou pas du tout avec cette méthode. Comme il existe entre nos

corpuscules et les granulations de Nissl une analogie assez frappante, nous inclinons à penser que dans le tétanos humain, où les cellules motrices subissent des modifications profondes, les corpuscules de Nissl présentent des réactions histo-chimiques anormales; ils se laissent colorer par la méthode de Mann. Seulement, alors que les corps chromatophiles de Nissl sont basophiles à l'état normal, nos corpuscules sont amphophiles ou acidophiles.

Colorons maintenant des coupes traitées par la méthode de Mann avec la méthode de Nissl. Nous verrons apparaître dans l'intérieur des cellules nerveuses un grand nombre de corpuscules basophiles de Nissl qui n'étaient nullement colorés par la méthode de Mann, nous devons conclure de ce fait qu'il n'y a qu'une partie, plus ou moins considérable, des granulations de Nissl qui subissent les transformations que nous venons d'indiquer.

La méthode de Nissl, qui permet de constater l'existence des lésions chromatolytiques des cellules nerveuses (planche VIII, fig. 7), ne montre pas ces lésions aussi étendues qu'on pourrait l'attendre. Il existe en effet un grand nombre de neurones où les corps chromatophiles sont très abondants (planche VIII, fig. 6).

Les méthodes de Mann et de Nissl montrent aussi des modifications importantes du noyau des cellules nerveuses. La membrane nucléaire disparaît; par suite de la diffusion d'une certaine partie de la chromatine du nucléole, le suc nucléaire se trouve plus ou moins coloré. Le nucléole, qui normalement se colore en bleu foncé avec ces deux méthodes, présente quelques sphérules rouges par la méthode de Mann; parfois il apparaît entièrement teint en rouge; néanmoins, grâce à leur réfringence, les sphérules se distinguent bien. Enfin, le nucléole se fragmente en un certain nombre de granulations (planche VIII).

Que devient la charpente neurofibrillaire des cellules motrices dans le tétanos humain? Pour en faire une étude soigneuse, nous nous sommes servi de la fixation à l'alcool ammoniacal et surtout d'un mélange composé d'alcool absolu, de chloroforme, d'acide acétique cristallisable à parties égales. Ce mélange nous a fourni de fort belles préparations. Il est nécessaire d'employer une assez grande quantité de ce fixateur,

et, au besoin, de le renouveler, de façon à obtenir des pièces suffisamment transparentes. Après une fixation de quarante-huit heures tout au plus, il est indispensable de soumettre les pièces à un lavage soigné à l'alcool absolu, puis à l'alcool à 90 degrés deux ou trois fois, puis après lavage à l'eau distillée les pièces sont traitées par le procédé d'imprégnation argentine de Ramon y Cajal, ce procédé est assez connu pour que nous nous dispensions de le décrire.

Grâce à cette technique, nous avons pu étudier avec soin les neurofibrilles des cellules motrices (planche IX, fig. 8, 9, 10), et il ressort de nos recherches que ces cellules contiennent un réseau neurofibrillaire d'une grande richesse et d'une merveilleuse délicatesse, ce qui implique sa parfaite intégrité.

Les faits que nous venons d'exposer nous autorisent à conclure :

1° Qu'il est possible de se rendre compte par la méthode histologique que le passage de la toxine tétanique fait subir aux neurones moteurs périphériques des modifications consistant en apparition dans le cytoplasme et les expansions cytoplasmiques des corpuscules qui subissent une série de transformations.

2° Il nous paraît digne de remarque que, pendant que le cytoplasme et les expansions cytoplasmiques du neurone moteur périphérique subissent des changements importants, le réseau neuro-fibrillaire qui existe dans les mêmes portions de ce neurone garde son aspect normal.

EXPLICATION DES PLANCHES

Toutes nos figures représentent des cellules motrices de la moelle épinière dans le tétanos humain; elles sont dessinées à la chambre claire de Zeiss avec l'objectif à immersion au 12^e et l'oculaire 4 de Leitz.

Les figures 1, 2, 3, 4, 5 proviennent de préparations faites par la méthode de Mann; les figures 6, 7, avec la méthode de Nissl modifiée. Dans la figure 7 où l'on constate une chromatolyse centrale, le fond de la préparation était coloré à l'éosine. Quant aux dessins 8, 9, 10, ils se rapportent à des préparations obtenues par l'imprégnation au nitrate d'argent (méthode des neurofibrilles; virage au chlorure d'or).

BACILLES TUBERCULEUX ET ARSENIC

par CHARPENTIER.

I

Tous les médecins connaissent les heureux résultats de la médication arsénicale dans certaines formes de tuberculose; le cacodylate de soude, en particulier, est pour beaucoup de tuberculeux un médicament précieux. L'arsenic agit-il sur le bacille ou, sans action directe sur lui, donne-t-il à l'organisme plus de vigueur pour lui résister? ou encore formerait-il, en passant par les cellules de l'organisme, ou même par la cellule microbienne, des composés doués de propriétés thérapeutiques? Une question très intéressante était posée; nous avons tenté de la résoudre par l'expérience.

Nos recherches étaient en cours, quand nous nous sommes aperçu que, si aucun mémoire important n'avait paru sur la question même qui nous occupait, du moins l'action de l'arsenic sur les bacilles tuberculeux avait-elle fait déjà l'objet de quelques travaux, encore inédits d'ailleurs.

Dans un article (1), intitulé : *Zur Chemotherapie der Tuberculose mit Gold*, Feldt dit, incidemment, que M. Ruppel a depuis longtemps, dans des recherches encore inédites, obtenu une résistance (*Festigkeit*) du bacille tuberculeux vis-à-vis de l'arsenic et du mercure.

Puis c'est Løwenstein (2) qui, d'après une communication écrite de la Fabrique de matières colorantes de Höchst, rapporte qu'en 1908 Benario avait engagé la Fabrique à préparer une tuberculine arsénifiée pour la thérapeutique et avait observé les faits suivants. L'arsenic, ajouté au milieu de culture sous forme d'acide arsénieux, dans la proportion de 1 p. 200.000

(1) *Deut. med. Woch.*, 1913, p. 549.

(2) KOLLE et WASSERMANN, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismus*, t. V, p. 626.

empêche tout développement du bacille tuberculeux; mais les bacilles peuvent s'habituer peu à peu à pousser dans les milieux arséniés et même à emmagasiner dans leurs cellules jusqu'à 0,3 p. 100 de leur poids d'arsenic; l'action thérapeutique d'une émulsion de ces bacilles arséniés n'est pas supérieure à celle de la tuberculine ordinaire.

Ces très brèves communications des savants allemands nous engagent à faire connaître dès maintenant le résultat de nos observations.

Il nous faut d'abord rappeler que les premières recherches concernant l'action de l'arsenic sur les cultures microbiennes datent déjà de près de vingt ans; elles remontent à 1896 et 1897 et sont dues à Emmerling (1) et à Gosio (2); puis en 1900 Ampola et Ulpiani (3) et en 1910 Rosenblatt et Rosenband (4) s'occupèrent, à des points de vue très spéciaux, de la culture de micro-organismes en présence de composés arsénicaux. Contradictoires sur certains points, les résultats de ces divers travaux s'accordaient cependant à établir que certains microbes peuvent vivre et se multiplier dans des milieux renfermant de l'arsenic, cet arsenic leur ayant été offert le plus souvent sous forme d'acide arsénieux, plus rarement sous celui d'acide arsénique ou d'acide méthylarsénique.

Or on connaît d'autres substances arsénicales dont la toxicité pour les animaux supérieurs est bien moindre que celle de l'acide arsénieux et l'acide arsénique: le cacodylate de soude, l'atoxyl, le méthylarsinate de soude (arrhéнал), par exemple. Le bacille tuberculeux ne se comporterait-il pas vis-à-vis de ces substances, douées de propriétés thérapeutiques incontestables, autrement qu'il ne le fait vis-à-vis des acides arsénieux et arsénique? Et d'abord pouvait-il se multiplier en leur présence?

Nous avons tenté la culture du bacille tuberculeux dans des milieux renfermant ces divers composés arséniés.

(1) EMMERLING, *Ber. der Deut. chem. Gesell.*, 1896, p. 2728, et 1897, p. 1026.

(2) GOSIO, *Ber. der Deut. chem. Gesell.* 1897, p. 1024.

(3) AMNOLA et ULPIANI, Sur l'action réductrice des bactéries dénitrifiantes. *Gazz. chim. ital.*, t. XXIX, p. 49, et in *Bull. Soc. chim.*, 3^e série, t. XXIV, p. 363.

(4) ROSENBLATT et ROSENHAND, Recherches sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la fermentation alcoolique. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1910, p. 196.

Toutes les expériences ont été conduites de la même manière. Une solution aqueuse, à un titre connu, de chaque composé arsénical était stérilisée par filtration sur bougie — à la température de l'ébullition, certaines d'entre elles s'altèrent, celles de cacodylate par exemple — et cette solution filtrée était ajoutée en proportion déterminée à une quantité connue de bouillon de veau glycérimé à 4 p. 100, employé couramment pour la culture du bacille tuberculeux. Dans chaque série de cultures on faisait en sorte que la quantité d'arsenic introduite dans chaque ballon fût la même quel que soit le composé arsénical employé (le calcul permet de déduire de la formule de chaque composé sa teneur exacte en arsenic). Les ballons arséniés étaientensemencés en même temps que des ballons témoins contenant du bouillon glycérimé ordinaire; nous avons choisi comme semence des bacilles bovins, parce que nos bacilles bovins poussaient beaucoup plus vigoureusement que nos bacilles humains et étaient très virulents pour le cobaye.

Les composés arséniés dont nous avons étudié l'action sur la multiplication du bacille tuberculeux ont été : le cacodylate de soude $\text{AsO}(\text{CH}_3)_2\text{ONa}$, le méthylarsinate de soude $\text{AsO}(\text{CH}_3)(\text{ONa})_2$, l'atoxyl ou aminophénylarsinate de soude $\text{AsO}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)(\text{ONa})(\text{OH})$ et l'arséniate de soude $\text{AsO}(\text{ONa})_2\text{OH}$, ce dernier déjà étudié à certains points de vue par d'autres auteurs comme nous l'avons rappelé plus haut.

Un premier fait très net est mis en évidence par l'examen des cultures : l'arséniate de soude, le méthylarsinate de soude, le cacodylate de soude et l'atoxyl n'empêchent pas la culture du bacille tuberculeux, même à doses très élevées pour certains d'entre eux.

Un bouillon de culture renfermant $1/675$ de son poids d'As sous forme d'*arséniate de soude*, — soit $1/162$ de son poids d'arséniate de soude — permet une culture aussi riche qu'un bouillon ne contenant pas d'arsenic; pour empêcher le développement du microbe, il faut arriver à des doses de $1/300$ d'As (c'est-à-dire $1/75$ d'arséniate).

Le *méthylarsinate* à la même dose que l'arséniate, soit $1/675$ d'As, ou $1/184$ de méthylarsinate, n'entrave pas la culture; cependant celle-ci est en retard sur les cultures témoins. Le

méthylarsinate de soude exercerait donc sur la pullulation du bacille tuberculeux une action très légèrement nuisible.

Le *cacodylate* est franchement plus délétère, 1/1600 d'As — ou 1/586 de cacodylate — suffit pour retarder beaucoup la culture, qui finit cependant par se faire; elle se fait même, mais avec plus de lenteur encore naturellement, en présence d'une dose double de cacodylate.

Quant à l'*atoxyl*, introduit dans le milieu de culture aux mêmes doses que l'arséniate de soude, il est encore moins nuisible que lui. 1/675 d'arsenic sous forme d'atoxyl — ou 1/162 d'atoxyl — loin de gêner la culture, semble la favoriser. Résultat d'autant plus intéressant qu'il était moins attendu; l'atoxyl ne renferme-t-il pas dans sa molécule le noyau de l'aniline qui se montre un antiseptique énergique, en particulier pour le bacille tuberculeux — il suffit d'ajouter une goutte d'aniline à 100 cent. cubes de bouillon ordinaire pour le rendre impropre à la culture du bacille. Si, de plus, il est dans l'atoxyl un élément qui favorise la multiplication du bacille de Koch ce ne saurait être l'arsenic, car en remplaçant dans le milieu de culture l'atoxyl $\text{ASO}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)(\text{ONa})(\text{OH})$ par le sulfanilate de soude $\text{SO}_2(\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)(\text{ONa})$, qui en diffère par la substitution du soufre à l'arsenic, on obtient le même résultat; la culture, très riche sur un bouillon renfermant 1/326 de son poids d'atoxyl, ne l'est pas moins sur du bouillon contenant le même nombre de molécules de sulfanilate de soude, soit 1/439 de son poids. Serait-ce le noyau de l'aniline qui, incorporé dans certaines combinaisons, favoriserait la culture?

Bref, à des doses déjà relativement élevées, aucune des substances étudiées n'entrave la pullulation du bacille tuberculeux, l'un des microbes cependant les plus exigeants au point de vue des conditions de culture; elles se séparent donc nettement de l'acide arsénieux dont 1/200.000^e, d'après Benario (1), empêche toute culture. Si on les classe d'après leur action sur la culture du bacille, ces composés se rangent dans l'ordre suivant : atoxyl, arséniate de soude, méthylarsinate de soude, cacodylate de soude; l'atoxyl se montrant le moins empêchant, le cacodylate de soude le plus antiseptique.

(1) KOLLE et WASSERMANN, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismus*, t. V, p. 626.

Une nouvelle série d'expériences exécutées avec une race de bacilles bovins autre que celle que nous avons employée dans la première série — les cultures en bouillon de cette nouvelle race sont un peu plus difficiles à obtenir — a donné des résultats différents, mais qui, cependant, confirment les précédents. En présence de 1/4600 d'arsenic sous forme d'arséniate ou de cacodylate, la culture est restée très maigre, celle avec cacodylate bien plus que celle avec arséniate, mais en présence d'atoxyl les microbes se sont très bien développés. L'atoxyl n'a donc aucunement nui à la multiplication des bacilles, l'arséniate un peu et le cacodylate beaucoup (1); c'est précisément le même ordre que celui indiqué plus haut. Remarquons, en passant, de quelle prudence il faut faire preuve quand on dit qu'un microbe — surtout s'il s'agit du bacille tuberculeux, dont la culture est plus délicate que celle de la plupart des autres microbes — ne se développe qu'en présence d'une dose donnée d'une substance; tout dépend de la race de microbes et de son entraînement à se multiplier dans les milieux artificiels.

Une dernière remarque. En considérant les formules :

Acide arsénique	$\text{AsO}(\text{OH})^3$
Acide méthylarsénique	$\text{AsO}(\text{OH})^2(\text{CH}^3)$
Acide cacodylique	$\text{AsO}(\text{OH})(\text{CH}^3)^2$

on est immédiatement frappé d'une coïncidence : le corps arsénié a une action d'autant plus prononcée sur la culture du bacille tuberculeux qu'il contient plus de groupes CH^3 substitués à des groupes OH .

II

Il est des races de bacilles tuberculeux qui poussent très bien dès la première culture, c'est-à-dire sans avoir subi d'entraînement, sur des bouillons renfermant des quantités considérables de certains composés arséniés. Comment se comportent ces bacilles vis-à-vis de l'arsenic? Celui-ci pénètre-t-il dans les cellules microbiennes, autrement dit les bacilles fixent-ils de

(1) Dans cette série nous n'avons pas fait de cultures en présence de méthylarsinate de soude, la première nous ayant montré que ces cultures tenaient le milieu entre celles sur arséniate et celles sur cacodylate.

l'arsenic dans leurs cellules ? L'analyse chimique devait nous le dire.

On sait aujourd'hui déceler les plus petites traces d'arsenic et les doser avec une très grande précision grâce à la méthode de Marsh, perfectionnée par M. Bertrand (1). C'est à elle que nous avons eu recours. Elle n'est applicable que si l'arsenic est à l'état d'acide arsénique et sans mélange avec des matières organiques. On commence donc par détruire la matière organique des corps microbiens, en même temps que l'on transforme leur arsenic en acide arsénique, puis on fait les dosages au moyen de l'appareil de Marsh : l'arsenic se dépose sous forme d'anneau dans le tube à dégagement et cet anneau peut être pesé.

Un fragment du voile microbien développé sur un bouillon arsénié est lavé à plusieurs reprises dans l'eau distillée stérile, puis enfermé dans une ampoule close et chauffé à 100 degrés (température qui tue les microbes). Après dessiccation dans le vide sec, les bacilles sont pesés, puis leur matière organique est détruite en suivant l'un des deux procédés préconisés par M. Bertrand : chauffage dans un mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique à une température inférieure à celle de l'ébullition de l'acide sulfurique, ou combustion dans l'oxygène sous pression à l'intérieur de la bombe calorimétrique de Berthelot.

Une cause d'erreur est à éviter. Le voile microbien développé sur du bouillon arsénié est évidemment imprégné de ce bouillon ; en déterminant la quantité d'arsenic contenue dans un fragment prélevé sans précaution, on trouverait un chiffre trop fort, puisqu'il comprendrait, outre l'arsenic fixé dans le protoplasma des bacilles, celui du bouillon les mouillant extérieurement. La correction est aisée : en pesant les bacilles humides, puis secs, — après dessiccation sur l'acide sulfurique, — on détermine le poids d'eau évaporée et le nombre qui mesure

(1) GABRIEL BERTRAND, Sur la recherche et la preuve de l'arsenic chez les animaux. *Ann. Chim. et Phys.*, 7^e série, t. XXIX, p. 242.

GABRIEL BERTRAND, Emploi de la bombe calorimétrique de M. Berthelot, pour démontrer l'existence de l'arsenic dans l'organisme. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XVII, p. 581.

GABRIEL BERTRAND et ZOLTAN VAMOSSY, Sur le dosage de l'arsenic par la méthode de Marsh. *Ann. Chim. et Phys.*, 8^e série, t. VII, p. 523.

ce poids mesure aussi le volume du bouillon qui mouillait les bacilles extérieurement et imbibait leur protoplasma; on pourrait évaporer à sec un volume de bouillon arsénié égal à ce volume, puis doser l'arsenic du résidu et retrancher le chiffre obtenu de celui trop fort trouvé pour les corps microbiens; mais, comme le bouillon contient proportionnellement beaucoup plus d'arsenic que les microbes, il vaut mieux laver le fragment de voile à plusieurs reprises et longtemps dans l'eau distillée avant d'y doser l'arsenic, puis, pour faire la correction, doser l'arsenic non point dans le bouillon, mais dans la dernière eau de lavage.

Très net est le résultat des analyses. Les bacilles tuberculeux qui ont poussé sur du bouillon renfermant de l'arséniate de soude et de l'atoxyl (nous n'avons pas cherché l'arsenic dans les bacilles des cultures faites en présence de méthylarséniate de soude et de cacodylate de soude) ont sans aucun doute fixé de l'arsenic dans leur protoplasma. Les quantités fixées sont très faibles; en voici un exemple.

Sur du bouillon renfermant 0,100 gramme d'arsenic sous forme d'atoxyl par 100 cent. cubes de liquide, nous prélevons après vingt-cinq jours de culture un fragment de voile très bien développé; après dessiccation sur l'acide sulfurique, son poids est de 0,211 gramme. Ces microbes ont donné un anneau d'arsenic pesant 0,140 milligr. (1). La correction due à l'arsenic contenu dans l'eau de lavage était sans intérêt, l'anneau d'arsenic produit étant absolument impondérable. Ainsi donc 211 milligrammes de bacilles arséniés renfermaient 0,140 milligr. d'As, soit 0,0663 p. 100 de leur poids.

Nous sommes évidemment bien loin du nombre 0,3 p. 100 trouvé par Benario (2), mais le résultat de nos expériences est de même sens que le sien, et il faut remarquer qu'il est obtenu dès la première culture sur bouillon arsénié sans adaptation progressive.

Les corps des bacilles ayant poussé sur des bouillons arséniés contiennent de l'arsenic, mais est-il nécessaire d'ajouter artificiellement de l'arsenic au milieu de culture pour que les

(1) Pesée effectuée à une balance exceptionnellement sensible permettant d'apprécier le $\frac{1}{250}$ de milligramme.

(2) *Loc. cit.*

microbes qu'il nourrira en renferment? Nous nous expliquons. M. Bertrand a montré (1) que l'arsenic existe normalement dans les tissus des animaux, qu'il s'agisse de l'homme et des mammifères ou des animaux inférieurs, oursins, étoiles de mer, éponges, etc... ; n'existerait-il pas toujours de même dans les corps des bacilles tuberculeux? L'expérience de contrôle a donné un résultat positif: on trouve des quantités notables (quoique impondérables) d'arsenic dans des bacilles qui ont poussé sur du bouillon de veau glycérimé ordinaire — et l'on devait s'y attendre. L'ubiquité de l'arsenic établie par M. Bertrand permet d'affirmer l'existence de ce corps dans les matériaux qui entrent dans la composition du bouillon: viande, peptone, glycérine. Nous avons vu que les bacilles tuberculeux poussent très abondamment sur des milieux arséniés et accumulent dans leurs cellules l'arsenic qu'on leur offre; ne serait-il pas surprenant qu'ils ne fixent pas celui qui se trouve normalement dans leur milieu de culture?

III

En poussant sur des bouillons renfermant les divers composés que nous avons étudiés ci-dessus, les bacilles tuberculeux se chargent d'arsenic; leur virulence en est-elle modifiée? Les quelques essais que nous avons faits nous permettent de répondre négativement. Les cobayes inoculés sous la peau avec ces microbes arséniés sont morts dans les mêmes conditions que les témoins.

IV

Les bacilles tuberculeux se développent très bien dans des milieux de culture contenant de l'arséniate de soude, du méthylarsinate de soude, du cacodylate de soude, de l'atoxyl, il était intéressant de savoir comment se comporteraient d'autres espèces microbiennes en présence de ces mêmes substances. Des résultats obtenus pouvaient découler des indica-

(1) *Loc. cit.*

tions précieuses sur les affinités du bacille tuberculeux avec telle ou telle espèce microbienne.

On sait déjà par les expériences d'Emmerling (1) et de Gosio (2) que des bacilles, levures, champignons inférieurs, peuvent vivre dans des milieux de culture renfermant de l'acide arsénieux.

Nos essais ont porté sur la *Bactéridie* charbonneuse, le *Bacterium coli*, le *Bacillus subtilis*, sur la *Levure de bière* et sur l'*Aspergillus niger*.

La *Bactéridie*, le *B. coli*, le *B. subtilis* étaient cultivés dans du bouillon de veau — de formule courante — stérilisé à 120 degrés auquel nous ajoutions, comme pour la culture du bacille tuberculeux, une solution aqueuse du composé arsénical stérilisée par filtration. Les milieux renfermaient 1/1.000 d'arsenic sous forme d'arséniate de soude, de méthylarsinate de soude ou d'atoxyl et 1/5.000 seulement sous forme de cacodylate de soude (qui est plus toxique que les autres composés arséniés pour le bacille tuberculeux), c'est-à-dire 0,416 p. 100 d'arséniate, 0,365 p. 100 de méthylarsinate, 0,414 p. 100 d'atoxyl et 0,054 p. 100 de cacodylate. Les résultats des cultures sont consignés dans le tableau ci-dessous :

	CULTURES DE		
	<i>Bactéridie</i>	<i>B. coli</i>	<i>B. subtilis</i>
Arséniate	très riche	très riche	très riche
Méthylarsinate	très riche	riche	pauvre
Cacodylate	très riche	très riche	très riche
Atoxyl.	pauvre	pauvre	nulle

L'arséniate, le méthylarsinate, le cacodylate ne nuisent aucunement aux cultures (sauf le méthylarsinate à la culture du *Bacillus subtilis*), mais par contre l'atoxyl leur nuit beaucoup.

(1) EMMERLING, *Ber. der Deut. Chem. Ges.*, 1896, t. III, p. 2728.

(2) GOSIO, *Ber. der Deut. Chem. Ges.*, 1897, t. I, p. 1024.

La *Levure de bière* a été cultivée dans le milieu suivant :

Maltopeptone	10 grammes.
Phosphate neutre d'ammoniaque	0,25 gr.
Sucre	100 grammes.
Eau distillée	1.000 grammes.

stérilisé à 120 degrés, auquel était ajoutée une quantité donnée d'une solution aqueuse d'un composé arsénical stérilisée par filtration sur bougie. Pour comparer, au point de vue qui nous occupe, la levure aux autres microbes déjà étudiés, il fallait observer l'action de l'arsenic sur sa multiplication et non sur la fermentation du sucre; il fallait donc mettre la levure dans des conditions où son pouvoir végétatif pouvait s'exercer au mieux, c'est-à-dire faciliter l'aération des cellules; la culture a été faite dans le milieu ci-dessus réparti en couche mince sur le fond de boîtes plates de M. Roux, renfermant chacune 150 cent. cubes de liquide.

Les composés arsénicaux, arséniate de soude, cacodylate de soude et atoxyl, ont été ajoutés au milieu en proportions telles que sa teneur en arsenic soit de 1/30.000, de 1/7.500 ou de 1/1.500; on jugeait ainsi immédiatement quelle dose d'arsenic gênait la multiplication de la levure. Les résultats sont consignés dans le tableau que voici :

NATURE du composé arsénié	QUANTITÉS D'ARSENIC CONTENUES DANS LE MILIEU		
	1/30.000	1/7.500	1/1.500
Arséniate	culture tr. riche	culture tr. pauvre	culture nulle
Cacodylate	culture tr. riche	culture tr. riche	culture pauvre
Atoxyl.	Culture tr. riche	culture tr. riche	culture tr. riche

On voit immédiatement que l'arséniate, même à la très faible dose de 1/7.500, gêne beaucoup la multiplication de la levure, que le cacodylate la gêne moins et l'atoxyl aucune-ment.

L'Aspergillus niger (*alias Sterigmatocystis nigra*) a été cultivé sur du liquide Raulin auquel était ajoutée la solution

aqueuse du composé arsénical. Les cultures étaient faites dans des ballons de 1 lit. 1/2 de capacité contenant seulement 200 cent. cubes de liquide chacun, l'expérience nous ayant appris que dans ces conditions le voile mycélien, s'il se développe normalement, a suffisamment d'air à sa disposition pour sporuler complètement. Sur du liquide Raulin renfermant 1/2.000 d'*Aspergillus* sous forme d'arséniate de soude, de cacodylate de soude ou d'atoxyl, des cultures se sont développées, qui, au bout de dix jours, présentaient les aspects suivants :

NATURE du composé arsénical.	ÉTAT DU MYCÉLIUM
Arséniate	Mycélium en petits îlots, pas de sporulation.
Cacodylate	Mycélium spongieux, début de sporulation.
Atoxyl	Mycélium très beau, ébauche de sporulation.
Culture témoin (liq. Raulin, sans As).	Mycélium très beau, sporulation complète.

A la dose indiquée, l'arséniate de soude empêche presque complètement la culture de l'*Aspergillus*, le cacodylate la contrarie beaucoup, l'atoxyl ne la gêne point. Il semble de plus que l'atoxyl nuise à la sporulation, car en sa présence pas de formation de spores. Tous ceux qui ont cultivé l'*Aspergillus*, non point comme Raulin dans des cuvettes ouvertes, mais dans des ballons fermés avec du coton, savent, il est vrai, que si, pour une raison ou une autre, le mycélium ne se développe pas très rapidement, la sporulation ne se fait pas, le mycélium ayant consommé pour végéter tout l'oxygène du ballon; mais dans le cas présent, le mycélium sur liquide Raulin atoxylé était au bout de trois jours au moins aussi bien développé que celui poussé sur liquide Raulin ordinaire, et tandis que ce dernier était, sept jours après, complètement noir, le premier présentait à peine un léger piqueté noir; la formation des spores avait été presque complètement arrêtée.

Résumons maintenant dans leurs grandes lignes les résultats que nous avons obtenus avec tous les microorganismes que nous avons étudiés. Le tableau suivant montre qu'en présence de l'arséniate, du cacodylate et de l'atoxyl, la *Levure* et l'*Aspergillus* se comportent autrement que la *Bactéridie*, le *B. coli* et le *B. subtilis*; les premiers poussant bien alors que

les autres ne se développent pas et inversement (1); quant au bacille tuberculeux, il imite l'*Aspergillus* et la *Levure* en présence de l'arséniate, mais il imite les bacilles en présence du cacodylate et de l'atoxyl.

	CULTURES DE					
	<i>Aspergillus</i>	<i>Levure</i>	<i>B. tuberculeux</i>	<i>Bactéridie</i>	<i>B. coli</i>	<i>B. subtilis</i>
Arséniate.	nulle	nulle	tr. riche	tr. riche	tr. riche	tr. riche
Méthylarsinate	tr. riche	tr. riche	riche	pauvre
Cacodylate	pauvre	pauvre	pauvre	tr. riche	tr. riche	tr. riche
Atoxyl.	tr. riche	tr. riche	tr. riche	pauvre	pauvre	nulle

Or, au point de vue morphologique, la *Levure* est regardée comme un champignon inférieur, rien de surprenant donc à ce qu'elle se comporte en présence d'arsenic comme l'*Aspergillus*. Le bacille tuberculeux a des analogies avec les Streptothricés, voisins des champignons inférieurs; n'est-il pas dès lors intéressant de constater que sa vie dans des milieux arséniés rappelle tantôt celle des champignons tantôt celle des bacilles?

La *Levure* et l'*Aspergillus* fixent-ils de l'arsenic dans leurs cellules?

La *Levure* pullule abondamment en présence de l'atoxyl. Nous avons cherché si ses cellules contenaient alors de l'arsenic. Les analyses ont été conduites comme pour la recherche de l'arsenic dans les bacilles tuberculeux et nous ont donné le même résultat : les cellules de levure peuvent fixer l'arsenic de l'atoxyl, mais en faibles quantités comme les bacilles tuberculeux.

V

L'*Aspergillus* se développe bien, lui aussi, sur un liquide renfermant de l'atoxyl, que fait-il de l'arsenic? Ici, comme les

(1) Exception faite pour le *B. subtilis*, en présence du méthylarsinate.

poids de matière organique (voile mycélien) et d'arsenic en jeu sont considérables, nous avons voulu répondre à cette question plus complètement que nous ne l'avons fait plus haut pour le bacille tuberculeux; nous avons cherché si le mycélium fixait de l'arsenic et, en outre, si au cours de la culture une certaine quantité d'arsenic n'était pas volatilisée sous forme, soit d'hydrogène arsénié, soit de combinaison organique plus ou moins complexe, telles certaines arsines.

Il nous fallait donc établir le bilan de l'arsenic avant et après la culture, c'est-à-dire doser l'arsenic introduit dans le liquide avant l'ensemencement, puis, la plante développée, le doser tant dans les tissus végétaux que dans le liquide sous-jacent, faire la somme des deux poids et comparer cette somme au poids d'arsenic initial.

L'analyse devant porter sur des poids assez considérables d'arsenic, nous l'avons conduite en suivant non la méthode de Marsh mais celle de Levol, dans laquelle l'arsenic est précipité à l'état d'arséniate ammoniac-magnésien et pesé sous forme de pyroarséniate de magnésium.

Deux ballons de 1.500 cent. cubes de capacité, renfermant chacun 200 cent. cubes de liquide Raulin atoxylé, sont mis à l'étuve, l'un ensemencé avec des spores d'*Aspergillus*, l'autre non. Au bout de deux mois, les deux ballons sont retirés de l'étuve; le ballon ensemencé contient un mycélium blanc bien développé, mais à peine piqué çà et là de points noirs, c'est-à-dire non sporulé.

On dose d'abord l'arsenic dans le liquide non ensemencé. 20 cent. cubes sont concentrés au bain-marie jusqu'à consistance sirupeuse (le sucre présent empêche la concentration à sec); cette matière pâteuse ne peut être brûlée dans la bombe, il faut l'attaquer par le mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique (recommandé par M. Bertrand); le produit de l'attaque additionné d'eau et filtré sur papier donne un liquide clair, renfermant l'arsenic, et des matières charbonneuses restées sur le filtre, ces dernières pouvant encore contenir des traces d'arsenic si l'attaque a été incomplète, ce qui arrive souvent. Pour éviter toute perte, le filtre renfermant les matières charbonneuses est desséché à l'étuve, puis brûlé dans la bombe et l'on traite l'eau de lavage de la bombe comme le liquide clair

séparé par filtration des matières charbonneuses; l'arsenic y est précipité par l'hydrogène sulfuré. Tout le sulfure d'arsenic produit est transformé par l'acide nitrique en acide arsénique et ce dernier, précipité ensuite par la mixture magnésienne, est pesé sous forme de pyroarséniate de magnésium.

On trouve ainsi que les 200 cent. cubes de liquide Raulin atoxylé témoin renfermaient 0,085 gramme d'arsenic. C'est donc là la quantité d'arsenic offerte à l'*Aspergillus* qui s'est développé dans le ballon ensemencé.

Pour connaître la quantité d'arsenic contenue dans ce dernier, la culture achevée, on fera le dosage successivement dans le mycélium et dans le liquide sous-jacent.

Dans le mycélium desséché, brûlé dans la bombe, nous avons trouvé 0,0048 gramme d'arsenic et, dans le liquide sous-jacent, en conduisant l'analyse comme pour le liquide Raulin atoxylé témoin, nous en avons trouvé 0,0797 gramme; or :

$$0,0048 + 0,0797 = 0,0845$$

Donc le ballon renfermait 0,0845 gramme d'arsenic, c'est-à-dire précisément la même quantité, 0,085 gramme, qu'il contenait au début, à un demi-milligramme près.

Nous pouvons donc conclure que pendant le développement du champignon une quantité appréciable d'arsenic n'a pas été volatilisée dans l'atmosphère.

Reste à savoir si la plante en a fixé dans ses cellules. On ne peut regarder comme tels les 0,0048 gramme d'arsenic trouvés dans le mycélium sec, car ils comprennent évidemment l'arsenic du liquide de culture, qui mouillait au début le mycélium et s'est déposé sur lui au cours de la dessiccation. Le mycélium pesait, humide, 18.772 grammes et sec 1.552 grammes, la différence $18.772 - 1.552 = 17.220$ représente le poids de l'eau évaporée, ou encore la somme des volumes de l'eau contenue dans les cellules et du liquide Raulin qui mouillait la plante; si ces 17.220 cent. cubes, avaient eu la même teneur en arsenic que ce liquide, ils auraient contenu 0,0094 gramme d'arsenic (1); or nous n'avons trouvé que 0,0048 gramme

(1) Le liquide de culture renfermant 0,0797 gramme d'arsenic avait un volume de 146 cent. cubes, donc 17.220 cent. cubes de ce liquide devaient renfermer $\frac{0,0797 \times 17,220}{146} = 0,0094$ d'arsenic.

d'arsenic dans le mycélium. Celui-ci n'a donc certainement pas accumulé d'arsenic dans ses cellules, il ne semble même pas en avoir fixé d'une manière notable. L'expérience ne nous permet pas d'être plus précis : pour avoir le droit d'affirmer qu'il n'y a pas eu la moindre fixation, il faudrait connaître le rapport du volume de l'eau imbibant les cellules à celui du liquide Raulin les mouillant extérieurement, et nous n'avons aucun moyen de déterminer ce rapport.

Quand nous aurons dit que les analyses ont porté sur une plante en culture depuis deux mois, n'ayant plus la turgescence d'une plante jeune, mais devenue molle et flasque comme les voiles d'*Aspergillus* ayant séjourné longtemps sur le liquide de culture, on trouvera ce résultat encore plus frappant. Les chiffres ci-dessus montrent avec la plus grande netteté que, même dans les cellules vieilles d'*Aspergillus*, le liquide qui imbibe le protoplasma n'a pas la même composition que celui sur lequel flotte la plante, et il semble que l'on puisse affirmer que la membrane des tubes mycéliens de l'*Aspergillus* est imperméable à l'arsenic de l'atoxyl ou tout au moins presque imperméable. Nous croyons devoir faire cette dernière restriction, parce qu'en présence d'atoxyl l'*Aspergillus* n'a pas sporulé; or il paraît bien difficile d'admettre que la seule présence d'arsenic dans le liquide Raulin, s'il n'a pas pénétré dans les cellules, ait empêché la sporulation.

Du reste, il ne faut pas oublier combien étaient faibles, dans les expériences rapportées plus haut, les quantités d'arsenic fixées dans le bacille tuberculeux et la levure; pour les raisons que nous avons indiquées, nous n'avons pas dosé par la méthode de Marsh l'arsenic dans l'*Aspergillus*; or la méthode de Levöl est certainement beaucoup moins sensible que celle de Marsh perfectionnée par M. Bertrand, et il est aisé de se rendre compte que si l'*Aspergillus* avait fixé l'arsenic en aussi faible quantité que le bacille tuberculeux, nous n'aurions pu le constater par la méthode d'analyse que nous avons suivie. 1,552 gramme de mycélium aurait, en effet, contenu 0,06 p. 100 d'arsenic soit 0,001 gramme, nombre de même ordre de grandeur que les erreurs d'expériences.

Pour résumer en quelques mots ce qui a trait à la fixation de l'arsenic par la *Levure* et l'*Aspergillus*, nous pouvons dire

que, si elle est très faible mais incontestable pour celle-là, elle est nulle ou tout au plus très faible pour celui-ci. Au point de vue qui nous occupe, le bacille tuberculeux ne se sépare donc pas sensiblement de la *Levure* et de l'*Aspergillus*.

VI

Que conclure de toutes nos expériences?

Le bacille tuberculeux pousse très bien en présence de l'arséniate de soude et de l'atoxyl, un peu moins abondamment en présence du méthylarsinate de soude, plus difficilement en présence du cacodylate de soude; il fixe l'arsenic de l'arséniate de soude et de l'atoxyl.

En étudiant l'action des mêmes composés arsénicaux sur des cultures de *Bactéridies*, de *B. coli*, de *B. subtilis*, de *Levure*, d'*Aspergillus*, nous avons constaté que le bacille tuberculeux se comporte tantôt comme la *Levure* et l'*Aspergillus*, tantôt comme les bacilles, suivant le composé arsénical introduit dans le milieu de culture.

Quant à la question, que nous nous posions au début de ce travail, de savoir comment agit l'arsenic chez les tuberculeux, nous ne pouvons y répondre catégoriquement. Les bacilles qui ont fixé de l'arsenic ne semblent pas, d'après nos expériences, modifiés dans leur virulence, ni, d'après celles de Benario (1), douées de propriétés nouvelles. Il est donc probable que le cacodylate agit sur l'organisme tuberculeux en augmentant la force de résistance; son action n'est d'ailleurs efficace, tout le monde le sait, que chez les individus qui résistent bien à la maladie; nous avons nous-mêmes reconnu avec M. E. Fernbach que les injections de cacodylate ne modifient en rien l'évolution de la maladie chez les cobayes inoculés avec des bacilles très virulents, quel que soit le moment où l'on commence le traitement.

(1) KOLLE et WASSERMANN, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismus*, t. V, p. 626.

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE DES EAUX
LES BACILLES COLIFORMES

par
A. MANDOUL (1)
Médecin-major de 2^e classe,
Directeur du Laboratoire
du IX^e Corps d'armée.

E. GRUAT
Préparateur au Laboratoire
de Bactériologie
du IX^e Corps d'armée.

(Travail du Laboratoire de Bactériologie du IX^e Corps d'armée, à Tours.)

LA NOTION DES BACILLES COLIFORMES

Appliquant depuis quelques années la méthode préconisée par M. le professeur Vincent pour la recherche et l'identification du colibacille dans les eaux, nous avons pu isoler et étudier un certain nombre d'espèces de bacilles mobiles, ne prenant pas le Gram, non chromogènes, poussant en quelques heures sur bouillon, même en présence d'une faible dose d'acide phénique et à la température de 41°5. Il ne s'agit incontestablement pas d'une espèce univoque, mais il y a un certain lien de parenté entre tous ces germes. Tous ressemblent plus ou moins au colibacille qui est le prototype de ce groupe, mais ils en diffèrent suivant les cas par l'apparition d'une propriété nouvelle ou par l'absence d'une des propriétés classiques de ce bacille.

Aussi la dénomination de bacilles coliformes, qui ne préjuge en rien de leur nature, nous paraît leur convenir. Nous apportons simplement des faits, sans nous lancer en vain dans des

(1) M. le médecin-major A. Mandoul a été tué, vers le 10 novembre 1914. Il était en mission avec M. le Médecin-major Dorland, attaché à la Direction du IX^e Corps et se rendait à Ypres, en automobile, pour y chercher des blessés, lorsqu'il fut atteint d'un éclat d'obus à la tête.

M. A. Mandoul, qui avait suivi les cours de l'Institut Pasteur dans l'année 1909-1910, avait débuté dans la bactériologie par une thèse de doctorat en médecine intitulée : *Bacille de Koch et séméiologie de la tuberculose pulmonaire*. Lyon, 1906.

considérations trop longues et inutiles sur les limites plus ou moins théoriques de l'espèce « bacille du côlon ».

Nous espérons simplement mettre en lumière dans ce travail toute l'importance que nous paraît présenter la notion des bacilles coliformes dans l'appréciation bactériologique d'une eau de boisson.

Caractères morphologiques et biologiques des bacilles coliformes.

A. — MORPHOLOGIE.

Il s'agit le plus souvent de bacilles courts de 1 à 2 μ , quelquefois plus longs dans les vieilles cultures. Les bacilles ont une mobilité propre différente du mouvement brownien que l'on peut constater facilement en examinant la culture à l'état frais. (La mobilité est nulle pour les germes cultivés en milieu phéniqué.)

Ils ne sont pas sporulés.

Si l'on s'adresse à des cultures jeunes de seize à vingt heures sur gélose, on peut arriver à mettre quelques cils en évidence. Ceux-ci ne sont jamais aussi nombreux que ceux du bacille typhique.

Au point de vue de la coloration, ces germes se colorent bien par toutes les couleurs basiques d'aniline, mais se décolorent par la méthode de Gram.

B. — CULTURES.

1° *Conditions thermiques.* — Les bacilles coliformes poussent à des températures très variables. La végétation se fait fort bien à 44°5, elle se fait aussi à la température relativement basse de 10 degrés. Mais la température optima est incontestablement celle de 37 à 38 degrés centigrades : dans ces conditions, le germe a déjà donné une culture peu visible, mais assez abondante pour être repiquée, après cinq à six heures. Au bout de douze heures, le bouillon est trouble. La vitesse de multiplication rend relativement facile l'isolement des coliformes d'avec les autres germes, avec lesquels ils sont mélangés dans le milieu ambiant.

2° *Conditions générales de culture.* — D'une façon générale, ces bacilles sont aérobies facultatifs, ils sont susceptibles de se développer en l'absence d'oxygène. La résistance aux antiseptiques est assez marquée, surtout pour l'acide phénique.

3° *Cultures en bouillon ordinaire.* — A 38 degrés, au bout de cinq heures, la culture en bouillon ne présente aucun trouble appréciable : elle est déjà repiquable. Après huit heures, on constate l'apparition d'ondes moirées caractéristiques. Après douze heures, le trouble est uniforme. Il ne se produit pas d'aérobie, ni de dépôt dans le fond du tube à moins qu'il ne s'agisse d'une culture déjà vieille.

4° *Culture sur gélose.* — Les cultures sont typiques au bout de dix à douze heures : Les colonies sont réfringentes et transparentes, les contours sont ovales ou anguleux et n'appartiennent jamais à une même circonférence.

Examinées à la loupe, elles présentent l'aspect classique dit en iceberg ou en montagne de glace.

5° *Culture sur pomme de terre.* — L'aspect en est très polymorphe; quelquefois la culture présente une couche mince et vernissée, tantôt elle est abondante et exubérante avec un reflet plus ou moins jaunâtre, tantôt elle est nettement blanche.

C. — CARACTÈRES FERMENTIFS SPÉCIAUX.

1° *Peptonisation de la gélatine.* — Cette recherche est de toute importance et servira à diviser en deux grands groupes les bacilles coliformes. L'ensemencement se fait en piqure, et la gélatine au Liebig ou au bouillon de viande sera employée de préférence.

Dans certains cas on observera une liquéfaction précoce de la 24^e à la 48^e heure. Le plus souvent, cette liquéfaction manque. Mais il est des cas fort embarrassants où le germe classé d'abord comme non liquéfiant n'a peptonisé la gélatine que vers le 15^e ou même le 20^e jour. Ce n'est donc que par une observation très prolongée que l'on peut arriver à faire le partage des deux groupes de nos coliformes.

La liquéfaction de la gélatine est actuellement considérée comme un caractère primordial, dans la classification bactériologique. Les faits qu'il nous a été donné d'observer font perdre

à ce caractère toute sa valeur, si le diagnostic est fait hâtivement. Est-ce un caractère aussi primordial, aussi absolu qu'on veut bien le dire? ou bien n'est-ce pas un caractère secondaire et contingent?

2° *Production de l'indol.* — L'indol doit être recherché dans des cultures en eau peptonée après quarante-huit heures; il faut s'assurer préalablement que la peptone employée ne donne pas spontanément de l'indol. Bien des procédés ont été préconisés pour déceler l'indol, mais celui qui nous paraît préférable est le suivant :

Epuiser la culture par l'éther, décantier l'éther surnageant et y ajouter quelques gouttes de solution alcoolique à 1/50^e de diméthylamidobenzaldéhyde. L'addition d'une à deux gouttes d'HCl fait disparaître un anneau rouge violet intense en présence de l'indol.

Un grand nombre de bacilles coliformes produisent de l'indol. Notre pratique actuelle nous fait attacher une grande valeur à cette recherche. Ce caractère ne s'altère pas par suite des repiquages successifs que subissent les germes pour être conservés.

Nous sommes donc là en présence d'un caractère d'espèce des plus fixes qu'il nous ait été donné de trouver en bactériologie.

3° *Réaction du Neutral-Roth.* — Il s'agit encore là d'une réaction constante et caractéristique des échantillons microbiens qui la présentent. Le neutral-roth sert à colorer le bouillon, qui doit être légèrement acide, car le colorant est précipité par l'alcalinisation. Soit un tube de bouillon au rouge neutreensemencé avec un bacille du groupe coliforme; trois cas peuvent se présenter :

a) Apparition d'une teinte jaune canari, fluorescente (réaction typique);

b) Précipitation de cristaux rougeâtres en rapport avec l'alcalinisation (sans signification);

c) Pas de changement (réaction négative).

L'addition de glucose au bouillon, préconisée par Savage, est utile, car la fermentation de ce sucre maintient constante l'acidité du milieu de culture et empêche ainsi la cause d'erreur due à l'alcalinisation du milieu.

4° *Fermentation des sucres.* — Au début de nos recherches,

nous avons espéré établir une loi de fermentation des différents sucres. Nous avons étudié, à ce point de vue, le lactose, le saccharose, le lévulose, le maltose et le glucose. Nous avons même noté que certains échantillons de paratyphique A font fermenter le maltose plus que le glucose : mais les phénomènes d'adaptation des germes au milieu, la constatation de fermentations tardives, la variabilité des propriétés fermentatives des germes conservés à notre collection sont venus nous montrer que toute loi serait illusoire. Pour nos recherches nous avons adopté conventionnellement le délai de quarante-huit heures, pour la constatation des phénomènes fermentatifs. L'absence de fermentation constatée au bout de deux jours nous fait donner un résultat négatif.

Deux méthodes utilisant les milieux liquides sont en présence pour révéler les fermentations :

1° La méthode des bouillons sucrés et carbonatés.

2° La méthode des bouillons sucrés tournesolés.

Dans la première, la production de gaz CO_2 est le signe de la fermentation. L'inconvénient de ce procédé est son peu de sensibilité. Si CO_2 est produit en petite quantité, il se dissout.

La deuxième, au contraire, est notre méthode préférée. En dehors de toute fermentation, le milieu reste bleu. Dans certains cas, l'alcalinité augmente et la couleur bleue devient plus foncée, comme par exemple avec le *Bacillus fecalis alcaligenes*. Lorsque la fermentation se produit, trois éventualités peuvent se présenter :

L'apparition d'une teinte rose ou rouge,

La décoloration de la teinture de tournesol,

Le phénomène curieux du caméléonage (le milieu d'abord bleu vire au rouge, puis au bleu).

Pour avoir des résultats précis, il est indispensable d'opérer avec un bouillon assez fortement alcalin.

Le sucre le moins facilement attaquable est certainement le lactose, puis le saccharose. Mais certains germes font fermenter le lactose et non le saccharose, d'autres inversement, d'autres les deux à la fois. Le glucose et le maltose sont ceux dont la fermentescibilité paraît la plus grande.

D. — PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DES COLIFORMES.

Nous avons fait l'essai de la virulence de nos divers germes coliformes vis-à-vis du lapin. La plupart se sont montrés tout à fait inoffensifs, tant en injection intraveineuse que intrapéritonéale. Nous avons étudié, surtout dans le but d'en déterminer l'origine, l'agglutinabilité par le sérum antityphique, par le sérum normal de bœuf. Nous reviendrons plus loin sur les résultats individuels de cette recherche pour les différents germes.

Coagglutination typhique. — La recherche s'est montrée constamment négative pour les germes extraits de l'eau. Au contraire, le sérum normal de bœuf s'est montré agglutinant pour certains coliformes des eaux.

Rôle biologique des coliformes.

Le rôle que remplissent les coliformes dans la nature est considérable; ces germes contribuent à la dislocation de la molécule azotée, mais ils n'attaquent pas la molécule entière, réservant leur action pour ses produits d'hydrolyse, les peptones.

Ils détruisent aussi les composés ternaires dérivant du clivage de la molécule primitive.

Aussi, sont-ils associés à d'autres ferments dont ils complètent l'action, ferments pancréatiques dans le tube digestif, microbes anaérobies dans la nature. L'association des coliformes et des anaérobies constitue une symbiose révélant la matière organique d'origine animale dans une eau. La présence d'anaérobies seuls serait un indice de matière organique végétale.

CLASSIFICATION GÉNÉRALE DES COLIFORMES

Pour établir une classification bactériologique des bacilles coliformes, il nous a fallu choisir un certain nombre de caractères que nous avons classés par ordre d'importance. Ces caractères sont au nombre de cinq, ce sont :

- 1° Peptonisation de la gélatine ;
- 2° La production de l'indol ;
- 3° La modification du rouge neutre ;
- 4° La fermentation du lactose ;
- 5° Celle du saccharose.

L'action sur la gélatine divise nos coliformes en deux grands groupes : les germes non liquéfiant et les liquéfiant. Les premiers constituent le groupe du coli et les seconds celui du proteus. Les germes de la première catégorie seront désignés par l'initial C; ceux de la deuxième par l'initiale P. La désignation des espèces ou races se fera en faisant suivre l'initiale C ou P, de la première lettre de tous les caractères positifs que présente le germe donné, dans l'ordre indiqué plus haut (indol rouge, neutre, lactose, saccharose). Ainsi le *Bacillus coli* commun qui ne liquéfie pas la gélatine, produit de l'indol, vire le rouge neutre, fait fermenter le lactose et non la saccharose, s'énoncera CIRL.

Le germe liquéfiant superposable s'énoncerait PIRL. Ces données rendront facile la lecture du tableau suivant ; on comprendra facilement que les espèces théoriquement possibles seraient plus nombreuses que celles indiquées ; mais nous nous sommes tenus strictement aux espèces que nous avons isolées des eaux, des purins, des matières fécales, des urines.

	GÉLATINE	INDOL	ROUGE NEUTRE	LACTOSE	SACCHAROSE
CIRLS. . .	0	+	+	+	+
CIRL . . .	0	+	+	+	0
CIRS. . . .	0	+	+	0	+
CILS. . . .	0	+	0	+	+
CIL	0	+	0	+	0
CRIS	0	0	+	+	+
CLS	0	0	0	+	+
C	0	0	0	0	0
PIRLS. . .	+	+	+	+	+
PIRL	+	+	+	+	0
PIRS.	+	+	+	0	+
PILS.	+	+	0	+	+
PIL	+	+	0	+	0
PIS	+	+	0	0	+

Le colibacille proprement dit est défini par les quatre premiers caractères : absence de liquéfaction de la gélatine, production de l'indol, virage du bouillon au rouge neutre, fermentation du lactose, et comprend deux variétés suivant qu'il y a ou non fermentation du saccharose.

Les autres espèces non liquéfiantes constituent les paracolibacilles dont nous avons isolé six variétés : CIRS — CILS — CIL — CRLS — CLS — C.

Pour le moment les colibacilles et les paracolibacilles retiendront seuls notre attention.

NE LIQUÉFIANT PAS LA GÉLATINE	Production de l'indol.	Le rouge neutre	{ Fermentation du lactose et du saccharose CRLS.
		vire au	{ Fermentation du lactose seul CIRL.
	jaune canari.	{ Fermentation du saccharose seul CIRS.	
	Ne produit pas d'indol.	Sans action sur	{ Fermentation du lactose et du saccharose CILS.
le rouge neutre.		{ Fermentation du lactose seul CIL.	
Agit sur le rouge neutre et fait fermenter le lactose et le saccharose CRLS.			
LIQUÉFIANT LA GÉLATINE	Produit de l'indol.	Sans action sur le rouge neutre et fait fermenter le lactose et le saccharose CLS.	
		Sans action sur le rouge neutre, ne fait pas fermenter le lactose et le saccharose C.	
		Ne produit pas d'indol.	
	Produit de l'indol.	Action sur le	{ Fermentation du lactose et du saccharose PIRLS.
		rouge neutre.	{ Fermentation du lactose seul PIRL.
			{ Fermentation du saccharose seul PIRS.
		Produit de l'indol.	Sans action sur le
rouge neutre.			{ Fermentation du lactose seul PIL.
			{ Fermentation du saccharose seul PIS.
Ne produit pas d'indol.			

On remarquera que, dans le tableau précédent, nous avons laissé de côté les germes liquéfiant ne produisant pas l'indol; c'est que ces germes s'éloignent par trop de la définition que nous avons donnée des coliformes : ils poussent surtout à froid, ne donnant pas de culture à 44°5 en présence de l'acide phénique, sont peu mobiles ; le type en est le *Bacillus albus liquefaciens*. Dans certaines circonstances, ces germes acquièrent des propriétés chromogènes et c'est ainsi que nous arrivons au *B. flavus liquefaciens* et même au *B. fluorescent liquefaciens*.

ÉTUDE PARTICULIÈRE DES COLIBACILLES ET DES PARACOLIBACILLES

I. — COLIBACILLES CIRLS.

Définition. — Bacille mobile ne prenant pas le Gram, non sporulé, non chromogène, ne liquéfiant pas la gélatine, produisant de l'indol, faisant virer le rouge neutre, provoquant la fermentation de tous les sucres (lactose et saccharose compris) et coagulant le lait.

Autres caractères. — Ce germe ne présente pas de coagglutination avec le sérum antityphique fourni par l'Institut Pasteur. Nous avons simplement noté une agglutination très faible avec le sérum normal de bœuf. Les cils sont rares et difficilement colorables.

Variétés. — Nous distinguons deux variétés suivant que la teinture de tournesol est décolorée ou non.

Habitat. — Ce germe est très fréquent, d'où le nom de *Bacillus coli communior* qui lui a été donné. C'est le *coli* typique des matières fécales. On le trouve aussi dans les eaux souillées.

II. — COLIBACILLES CIRL.

Définition. — Ce germe ne diffère du précédent que par l'absence de fermentation du saccharose, c'est le *Bacillus coli communis* des auteurs.

Ses cils sont rares et difficilement colorables.

Pas d'agglutination avec le sérum antityphique, mais agglutination très légère avec le sérum normal de bœuf.

Habitat. — Nous n'avons pas rencontré ce germe dans les matières fécales, où il est plus rare que l'espèce précédente. Il existe le plus souvent dans l'eau, d'où nous avons extrait les quelques échantillons de notre collection.

III. — PARACOLIBACILLES CILS.

Définition. — Bacille mobile, non sporulé, ne prenant pas le Gram, non liquéfiant, non chromogène, produisant de l'indol, faisant fermenter tous les sucres, mais inactif vis-à-vis du rouge neutre.

Ce germe n'est pas agglutiné par le sérum antityphique ni par le sérum normal de bœuf.

Habitat. — Ce paracolibacille a été rencontré par nous dans les eaux, les matières fécales et les urines. Il s'agit le plus souvent d'un germe d'origine humaine.

IV. — PARACOLIBACILLE CIRS.

Ce germe, qui produit de l'indol, fait virer le rouge neutre, mais est inactif vis-à-vis du lactose. Le saccharose et les autres sucres fermentent. Ce germe n'est dans aucun cas agglutiné par le sérum antityphique; mais suivant son origine nous avons constaté des différences curieuses dans le pouvoir agglutinatif du sérum normal de bœuf. Le germe d'origine hydrique est nettement agglutiné, celui provenant de matières fécales humaines n'est pas agglutiné. Nous estimons que le germe trouvé dans les eaux est vraisemblablement d'origine bovine et non humaine.

Au point de vue des cils, nous avons constaté des différences, le bacille humain est muni d'un seul cil très long, le bacille hydrique, au contraire, n'en possède pas.

V. — PARACOLIBACILLE CIL.

Bacille mobile produisant de l'indol, ne liquéfiant pas la gélatine, inactif vis-à-vis du rouge neutre, provoquant la fermentation du lactose et non celle du saccharose.

Ce germe a été isolé des eaux, des fèces, de l'urine; dans aucun cas nous n'avons constaté d'agglutination ni par le sérum antityphique ni par le sérum de bœuf normal. Nous n'avons pas non plus constaté de cils dans les divers échantillons de ce genre à notre disposition.

VI. — PARACOLIBACILLE CRLS.

Il s'agit d'un germe différent de tous les précédents par la non-production de l'indol. Il est assez voisin du paratyphique *B* qui, lui, ne fait pas fermenter le saccharose.

Nous avons rencontré cette espèce dans les eaux, mais aussi dans le sang d'un malade présentant un état typhique, d'ailleurs terminé par la guérison.

Il y a des différences entre ce germe suivant ses origines hydrique ou sanguine, comme l'indique le tableau suivant.

	AGGLUTINATION par sérum antityphique	SÉRUM normal de bœuf	CLS
Germe des eaux.	Négative.	Négative.	Absents.
Germe du sang.	Positive.	Négative.	Cils assez nombreux.

Le pouvoir d'agglutination de ce germe par le sérum antityphique est moins intense que celui du paratyphique *B* pour lequel la coagglutination se fait à 1/100.

VII. — PARACOLIBACILLE CLS.

Il s'agit encore d'un germe ne produisant pas l'indol, inactif sur le rouge neutre, mais faisant fermenter les sucres. Les échantillons de notre collection proviennent soit des matières fécales, soit des purins. Le germe d'origine fécale nous a paru très agglutinable, tant par le sérum antityphique que par le sérum de bœuf; celui émanant des purins, au contraire, n'est pas agglutiné.

VIII. — PARACOLIBACILLE C.

Nous arrivons maintenant au germe des eaux qui se rapproche le plus de l'Eberth. Le tableau suivant établit le parallèle de ces deux germes.

	BACILLE	LONGUEUR	GRAM	GÉLATINE	INDOL	ROUGE NEUTRE	SUCRE	CLS	SÉRUM anti- typhique	SÉRUM normal (bœuf)
Eberth.	Mo- bile.	2 à 4 μ .	—	Non liquéfiée.	0	0	0	8	Agglu- tiné.	Faible- ment agglutiné.
Paracoli- bacille C.	Mo- bile.	2 à 4 μ .	—	Non liquéfiée.	0	0	0	Pas de cils.	Non agglu- tiné.	Non agglutiné.

LES BACILLES COLIFORMES DES EAUX

I. — CONCURRENCE VITALE DE L'EBERTH ET DU COLI.

Lorsque le bacille typhique et le colibacille se trouvent mélangés, il est pour ainsi dire impossible au bactériologiste d'isoler le premier. Cela tient aux raisons suivantes : ces deux germes ont les mêmes conditions de culture ; ils poussent facilement l'un et l'autre même en présence de l'acide phénique, même à 41°5. D'autre part, les diverses substances que l'on peut ajouter au milieu pour sélectionner les germes ne laissent subsister que le germe le plus viable, le plus résistant : le colibacille. Cela nous paraît un contresens de mettre en concurrence vitale le colibacille et l'Eberth sur des milieux dysgéniques. Il est évident que le colibacille l'emportera toujours.

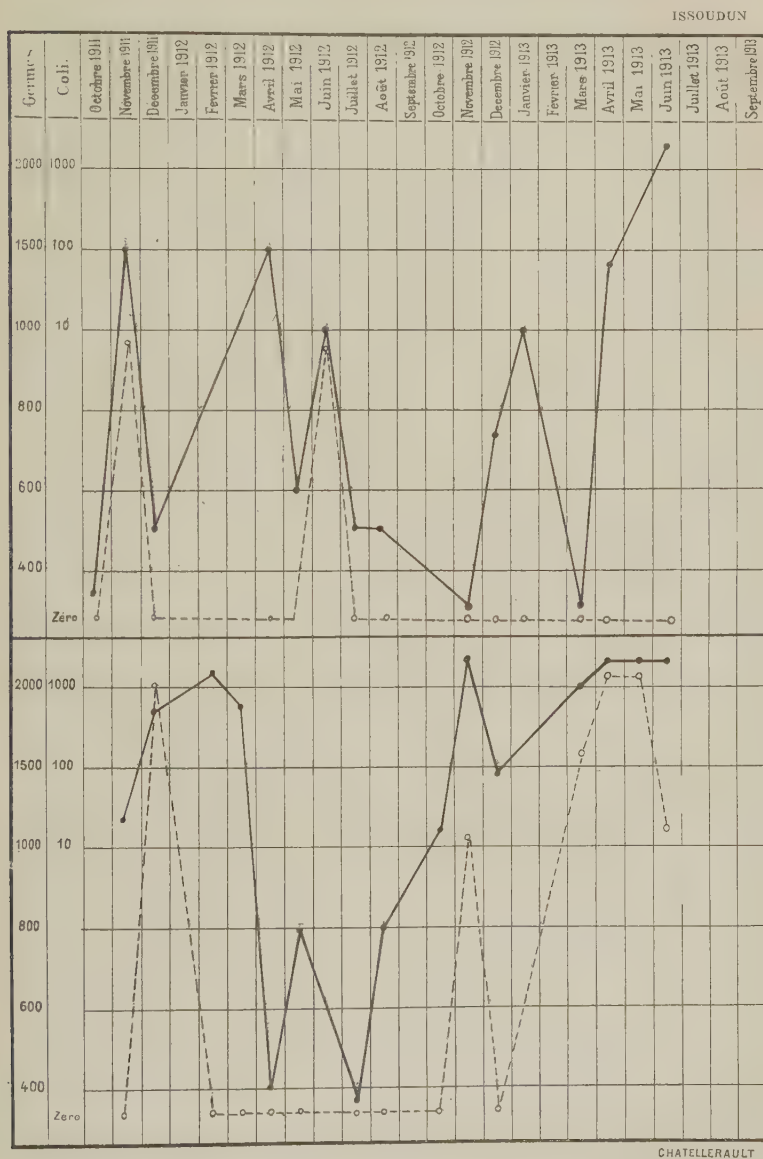
La méthode basée sur la séparation des deux bacilles par l'agglutination est simple en théorie, mais elle ne tient pas compte des coagglutinations intéressant aussi le coli ; aussi ne peut-elle donner de résultat que si le bacille typhique est notablement plus abondant.

Toutes les méthodes employées jusqu'à ce jour ont donné quelques résultats positifs, mais toutes sont inconstantes. On est donc réduit à la recherche et au dosage des colibacilles considérés comme des témoins de la présence possible de l'Eberth. Mais l'adaptation au milieu ambiant, si différent du milieu organique au point de vue thermique et nutritif, déforme le colibacille, en modifie les caractères ; d'où l'utilité pratique de la notion des coliformes, d'autant plus grande que toute la série pathogène, ne produisant pas d'indol, n'est pas adaptable en dehors de l'organisme humain et que les coliformes qui s'en rapprochent sont le plus souvent inoffensifs et d'origine animale.

II. — LES COLIFORMES DES EAUX DE SURFACE.

Dans les eaux de surface, source, rivière, fleuve, on trouve le plus souvent les colibacilles vrais, *communis* et *communior*.

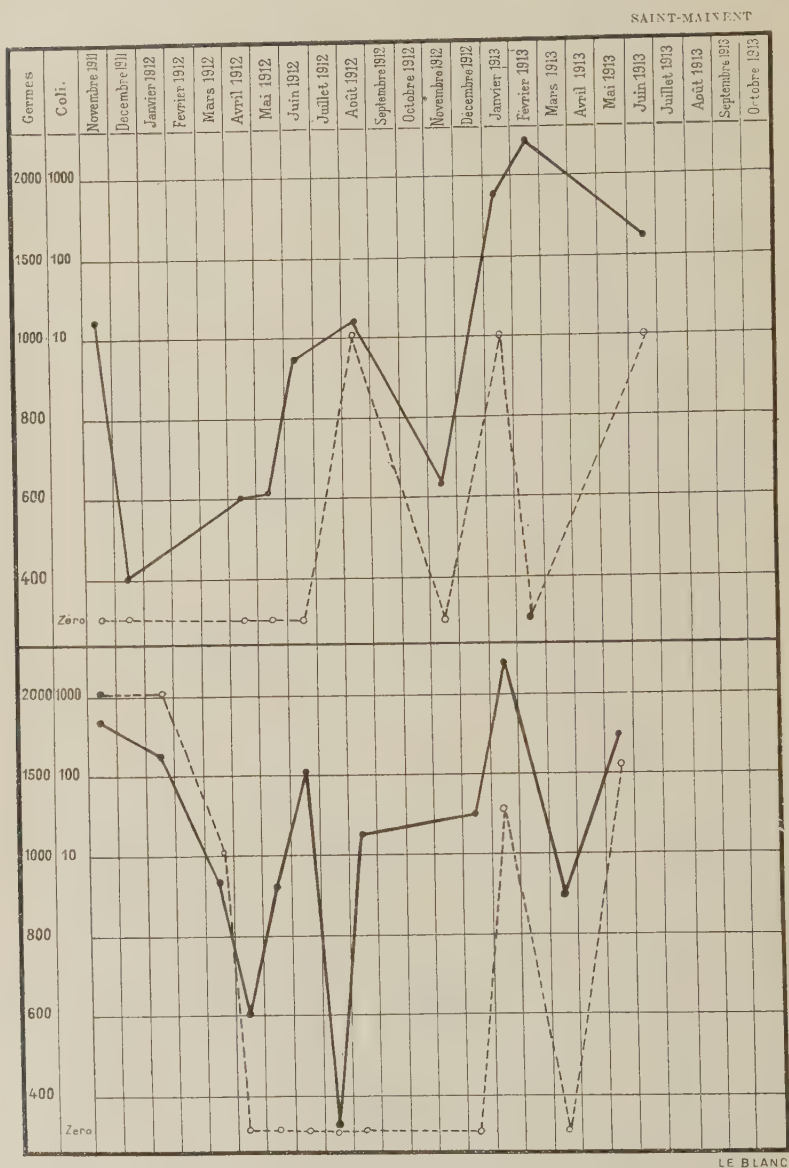
La cause de l'apparition de ce germe est incontestablement le



Courbes des examens bactériologiques des eaux brutes des garnisons d'Issoudun et Chatellerault.

déversement des eaux pluviales souillées dans les cours d'eau.

Enoncer ce fait, c'est dire que la constatation du colibacille



Courbes des examens bactériologiques des eaux brutes des garnisons de Saint-Maixent et Le Blanc.

répondra aux périodes de pluie et d'eaux troubles. La courbe

de ce germe sera donc saisonnière. En même temps, le nombre des autres germes s'élèvera d'une façon massive. D'autre part, la souillure étant due aux lavages des surfaces, il n'y aura que fort peu d'anaérobies. Pour se rendre compte de ces faits, il suffit de comparer les tableaux ci-dessus (p. 471 et 472) des principales garnisons de notre corps d'armée alimentées en eau de rivière. [(La numération des colibacilles a été faite selon la méthode de notre maître, M. le professeur Vincent (1)).]

Nous pourrions fournir à l'appui de notre démonstration d'autres graphiques, mais ils n'apporteraient aucun fait nouveau.

Tous nous permettent de constater :

1° Que, dans les eaux de surface, toute élévation dans le taux du coli répond à une élévation parallèle et proportionnelle du germe total des germes aérobies;

2° Qu'à un degré léger d'infection, le nombre des germes peut s'élever sans que le colibacille apparaisse;

3° Que la présence du colibacille est intermittente et répond à des circonstances soit saisonnières, soit météorologiques (orages et crues par exemple).

III. — LES COLIFORMES DANS LES EAUX SOUTERRAINES.

Dans les eaux de surface nous avons constaté le parallélisme du taux du colibacille avec celui des germes aérobies en général. Dans les eaux des puits ce rapport est souvent en défaut : mais, par contre, il y a un rapport étroit entre la teneur d'une eau en bacilles coliformes et la teneur de cette même eau en bacilles anaérobies. C'est que, dans les fosses, loin de l'air atmosphérique, se constitue une symbiose bactérienne entre les anaérobies, ouvriers de la première heure dans la dislocation de la molécule organique, et les bacilles anaérobies facultatifs qui utilisent les produits du premier élevage.

Notre attention s'est surtout portée sur l'eau de puits voisins de fosses d'aisance. Pour faire comprendre toute la portée de ces recherches, nous allons citer deux cas concrets, concernant des casernes de gendarmerie en campagne.

(1) *Annales d'Hygiène générale et appliquée*, février 1909.

Premier exemple. — Une petite épidémie typhique éclate au mois de juillet 1913, à la caserne de gendarmerie de Clan dans la banlieue de Poitiers. 3 cas se produisent chez les enfants. Nous étant rendus sur les lieux pour procéder à la vaccination et à une enquête épidémiologique, nous n'avons pas tardé à nous rendre compte que le puits de la gendarmerie se trouvait à moins de 5 mètres d'une fosse d'aisance non étanche appartenant à une maison voisine.

Un cas de fièvre typhoïde s'était produit dans la maison en question en 1912.

Les malades avaient bu de l'eau du puits : l'origine de cette petite épidémie était manifestement hydrique. L'examen bactériologique a mis en évidence, au taux de 4.000 germes par litre, un bacille mobile, ne prenant pas le Gram, produisant de l'indol, faisant virer le rouge neutre et fermenter les sucres, mais liquéfiant la gélatine, répondant par conséquent à notre formule PIRLS; aucune trace de coli vrai. Mais par contre de très nombreux anaérobies stricts (une vingtaine par centimètre cube), odeur putride des cultures. La désinfection du puits est restée sans effet, le puits recevant des infiltrations de la fosse selon toute probabilité.

Deuxième exemple. — Nous avons été appelés à expertiser l'eau du puits de la gendarmerie de Neuilli-Pont-Pierre, dans les environs de Tours. Mise en évidence du même germe PIRLS en compagnie de nombreux anaérobies. Le curage et la désinfection du puits n'ayant pas modifié la valeur de l'eau, nous procédons sur place à une enquête méticuleuse. Nous apprenons que la fosse d'aisance, située à 25 mètres, présente, quoique cimentée, des variations de niveau suivant les saisons. L'épreuve de la fluorescéine, que nous pratiquons alors en introduisant dans cette fosse 5 grammes de cette substance, nous démontre que la fosse contamine l'eau du puits, car dès le lendemain soir celle-ci présente la teinte verte fluorescente.

C'est le deuxième exemple d'eau de puits contaminée par une fosse d'aisance ne contenant pas de coli vrai, mais un coliforme liquéfiant la gélatine et de nombreux anaérobies.

Ces constatations vont nous permettre à l'avenir de considérer comme souillée toute eau contenant l'association de coliformes liquéfiant et d'anaérobies.

IMPORTANCE PRATIQUE DE LA NOTION DU COLIFORME

Il ressort des considérations précédentes que la constatation de la présence ou de l'absence du colibacille, pour si importante qu'elle soit dans l'appréciation bactériologique d'une eau, ne doit pas faire oublier les autres facteurs, notamment la présence de tous les bacilles produisant de l'indol, même liquéfiant la gélatine, et celle des anaérobies.

S'il nous faut renoncer au fallacieux espoir de trouver dans l'eau des espèces pathogènes, nous devons au moins nous attacher à y déceler la flore fécale humaine dont le coli ne présente qu'une seule espèce, flore comprenant tout un groupe de germes ayant comme caractères communs de produire l'indol, de faire virer le rouge neutre, se comportant d'une façon variable vis-à-vis de la gélatine et des sucres, alors que les espèces voisines d'origine animale ne produisent pas d'indol, ne virent pas le rouge neutre et sont souvent agglutinables par les sérums normaux de bœuf ou de cheval.

Le Gérant : G. MASSON.

